

Herbert Hopf
—

**Biosynthese, Physiologie und Verbreitung
von Oligosacchariden in Umbellifloren**

1974
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551927_0044

BIOSYNTHESE, PHYSIOLOGIE UND VERBREITUNG VON
OLIGOSACCHARIDEN IN UMBELLIFLOREN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Fakultät für Biologie
der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt
von
Herbert Hopf
aus
München

November 1973



1. Berichterstatter: Prof. Dr. O. Kandler
2. Berichterstatter: Prof. Dr. E. Beck

Tag der mündlichen Prüfung: 9.1.1974

Inhaltsverzeichnis

I.	Einleitung	1
II.	Material und Methoden	3
1.	Pflanzenmaterial	3
2.	Applikation von radioaktiven Substanzen	3
3.	Extraktion	4
4.	Trennverfahren	4
4.1.	Papierchromatographie	4
4.2.	Hochspannungselektrophorese	5
4.3.	Säulenchromatographie	5
5.	Lokalisierung von Substanzen auf den Papierchromatogrammen und Pherogrammen	6
6.	Messung der Radioaktivität	6
7.	Darstellung von ^{14}C -Saccharose, ^{14}C - Galactinol und ^{14}C -Monosacchariden	7
8.	Verschiedene Methoden zur Analyse der Oligosaccharide	7
8.1.	Hydrolyse der Oligosaccharide	7
8.2.	Verhalten von Oligosacchariden gegen Alkali	8
8.3.	Bestimmung der optischen Drehung von Oligosacchariden	9
9.	Quantitative Bestimmungen	9
9.1.	Monosaccharide	9
9.2.	Oligosaccharide	10
10.	Enzympräparation aus Umbelliferen	10
10.1.	Versuchsmaterial	10
10.2.	Isolierung und Reinigung der UDP-Galac- tose:Saccharose 2-Galactosyltransferase	10
10.3.	Bestimmung der Enzymaktivität	12
10.4.	Proteinbestimmung	14
11.	Chemikalien	15

III. Ergebnisse und Diskussion	16
1. Identifizierung von Kohlenhydraten in Umbelliferen	16
1.1. Identifizierung von Oligosacchariden	16
1.1.1. Isolierung und Identifizierung von Umbelliferose aus Früchten von <i>Carum carvi</i>	16
1.1.2. Isolierung und Identifizierung von drei Oligosacchariden aus Früchten von <i>Carum carvi</i>	18
1.2. Isolierung und Charakterisierung des Endospermopolysaccharides aus Früchten von <i>Carum carvi</i>	23
2. Verbreitung von Kohlenhydraten bei Umbellifloren	27
2.1. Verbreitung von Umbelliferose in Blättern, Sproßen, Speicherorganen und Früchten von Umbelliferen	27
2.1.1. Verbreitung von Umbelliferose in Blättern	28
2.1.2. Verbreitung von Umbelliferose im Sproß	31
2.1.3. Verbreitung von Umbelliferose in Speicherorganen	31
2.1.4. Verbreitung von Umbelliferose in Früchten	33
2.2. Verbreitung von Trehalose, Glucosylmannose und Mannitglucosid, sowie Mannan in den Früchten von Umbelliferen	33
2.3. Vorkommen von Umbelliferose und Mannan bei den Umbellifloren	35
2.3.1. Verbreitung der Umbelliferose	39
2.3.2. Verbreitung von Mannan	40
2.4. Diskussion	41
3. Physiologie der Umbelliferose	43
3.1. Jahreszeitlicher Gang verschiedener Kohlenhydrate in <i>Aegopodium podagraria</i> und <i>Carum carvi</i>	43

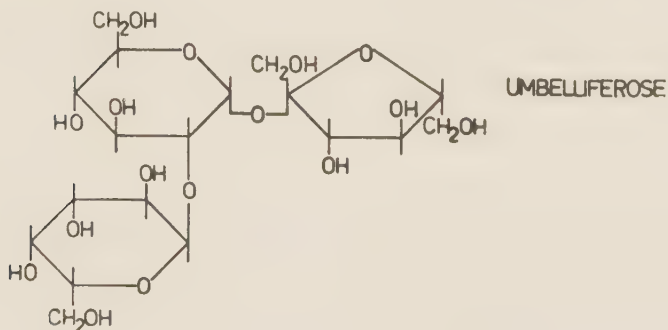
3.2.	Ableitung von Umbelliferose und Saccharose vom Blatt in die Wurzel bei <i>Aegopodium podagraria</i>	47
3.2.1.	Aktivitätsverteilung auf der Transportstrecke	47
3.2.2.	Verteilung der Aktivität auf Saccharose und Umbelliferose	47
3.2.3.	Quantitative Aspekte bei der Ableitung von Umbelliferose und Saccharose	50
3.2.4.	Veränderungen im Kohlenhydratgehalt von <i>Aegopodium podagraria</i> während verschieden langer Ableitungszeit	53
3.2.5.	Ableitung von Saccharose und Umbelliferose vom Blatt in die Wurzel bei <i>Anthriscus cerefolium</i>	57
3.3.	Umsatz der Umbelliferose und anderer Kohlenhydrate in reifenden Früchten von <i>Carum carvi</i>	59
3.3.1.	Vorkommen von verschiedenen Zuckern in Blüten, reifenden Früchten und Doldenstrahlen von <i>Carum carvi</i>	59
3.3.2.	Photosynthese von reifenden Früchten von <i>Carum carvi</i> in $^{14}\text{CO}_2$	64
3.3.3.	Fütterung von U- ^{14}C -Kohlenhydrate an Früchte	73
3.3.4.	Zusammenfassung	73
3.4.	Umsatz der Umbelliferose und anderer Kohlenhydrate in keimenden Samen von <i>Carum carvi</i>	74
3.4.1.	Veränderungen im Kohlenhydratgehalt in Keimlingen von <i>Carum carvi</i> während der Keimung	75
3.4.2.	Fütterung von U- ^{14}C -Kohlenhydraten an 8 Tage alte Keimlinge von <i>Carum carvi</i>	78

3.4.3.	Untersuchung über den Abbau des Mannans	81
3.4.4.	Zusammenfassung	82
3.5.	Diskussion zur Physiologie der Umbelliferose	83
4.	Das Vorkommen von Trehalose in Früchten und Keimlingen von <i>Carum carvi</i> und in anderen Umbelliferen	84
4.1.	Zusammenfassung der eigenen Ergebnisse	84
4.2.	Bisherige Untersuchungen über das Vor- kommen von Trehalose bei Angiospermen	84
4.3.	Überprüfung der eigenen Ergebnisse	85
4.4.	Mögliche Rolle des Trehalose-Trehalase- Systems in reifenden Früchten und Keimlingen von <i>Carum carvi</i>	86
5.	Untersuchungen zur Biosynthese der Umbelli- ferose	89
5.1.	Markierungskinetik und Ermittlung des Umsatzes von Umbelliferose	89
5.1.1.	Markierungskinetik bei <i>Aegopodium</i> <i>podagraria</i>	90
5.1.2.	Markierungskinetik bei <i>Carum carvi</i>	93
5.1.3.	Markierungskinetik bei <i>Laserpitium siler</i>	93
5.2.	Intramolekulare Verteilung des ^{14}C in Umbelliferose, Raffinose und Galactinol	93
5.2.1.	Aktivitätsverteilung in der Umbelliferose	97
5.2.2.	Aktivitätsverteilung in der Umbelliferose bei gleichzeitiger Raffinosesynthese mit Galactinol	98
5.3.	Hinweise auf die Biosynthese der Umbelli- ferose durch Fütterung von $\text{U-}^{14}\text{C}$ -Kohlen- hydraten	100
5.3.1.	Ergebnisse der chromatographischen Analyse	101

5.3.2.	Diskussion der Ergebnisse der Fütterungsversuche	103
5.4.	Diskussion der Biosynthese der Umbelliferose	104
6.	Die Biosynthese der Umbelliferose in vitro	107
6.1.	Bildung der Umbelliferose in Extrakten aus Blättern von <i>Aegopodium podagraria</i>	107
6.2.	Identifizierung der Umbelliferose	107
6.3.	Kinetik der Umbelliferose	108
6.4.	Acceptorspezifität des Enzyms	110
6.5.	pH-Abhängigkeit der Umbelliferose-Synthese-Reaktion und verschiedener Hydro- lasen	110
6.6.	Stabilität des Enzyms	111
6.7.	Umbelliferosesynthese in Extrakten aus Früchten und Keimlingen von <i>Carum carvi</i>	111
6.8.	Diskussion	112
IV.	Zusammenfassung	114
V.	Literaturverzeichnis	117

I. Einleitung

A. Wickstrom und A.B. Svendsen entdeckten 1956 in den Wurzeln einiger Umbelliferen ein Trisaccharid, das sie als O- α -D-Galactopyranosyl-(1-2)-O- α -D-Glucopyranosyl-(1-2)-O- β -D-Fructofuranosid identifizieren konnten. Sie benannten dieses Trisaccharid, das eine Isoraffinose darstellt, Umbelliferose.



A.B. Svendsen (1956) analysierte 17 Umbelliferenarten und konnte Umbelliferose dabei in verschiedenen Teilen aller Pflanzen nachweisen. Untersuchungen von Crowden et al. (1969) ergaben, daß Umbelliferose in allen acht

Triben der Unterfamilie Apioideae vorkommt. Hiller (1969) konnte Umbelliferose auch in der Unterfamilie Saniculoideae nachweisen. Auf dem internationalen Symposium über "Biologie und Chemie der Umbelliferen" (London 1970) faßte Hegnauer die bisherigen Untersuchungen über die Umbelliferose dahingegen zusammen, daß Umbelliferose ein charakteristisches Oligosaccharid der Umbelliferen darstellt.

Die bisherigen Untersuchungen über die Umbelliferose, die fast ausschließlich qualitativer Natur waren, ließen jedoch die Frage offen, ob in den Umbelliferen Raffinose vorkommt bzw. ob Raffinose durch die isomere Umbelliferose ganz oder nur teilweise ersetzt ist. Außerdem war unklar, in wie weit Umbelliferose in den den Umbelliferen verwandten Gruppen verbreitet ist. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb näheren Aufschluß über das Vorkommen und den Umsatz von Umbelliferose und Raffinose bei den Umbellifloren zu erhalten.

Unbekannt ist bisher auch die Biosynthese der Umbelliferose. Nachdem Kandler, Lehle, Senser und Tanner (1967, 1970) die Beteiligung von Galactinol, einem α -Galactosid des myo-Inosits, bei der Biosynthese der Raffinose, Stachyose und Verbascose nachweisen konnten, war es von Interesse, ob Galactinol auch in Umbelliferen vorkommt. Darüber hinaus sollte in der vorliegenden Arbeit versucht werden, eine mögliche Beteiligung von Galactinol auch bei der Biosynthese der Umbelliferose nachzuweisen.

II. Material und Methoden

1. Pflanzenmaterial

Das Pflanzenmaterial stammte aus dem Botanischen Garten München, das Herbarmaterial der Garryaceae aus der Bayerischen Staatssammlung München. Früchte von Araliaceae und Cornaceae wurden von den Botanischen Gärten Amsterdam, Berlin, Sydney und Wageningen erhalten.

2. Applikation der radioaktiven Substanzen

2.1. Applikation von $^{14}\text{CO}_2$

Für die kurzzeitigen Photosyntheseversuche mit $^{14}\text{CO}_2$ wurde die von Scherpenberg et al. (1965) beschriebene Apparatur verwendet.

2.2. Applikation radioaktiver Zucker an Pflanzenteile

Die Fütterung erfolgte modifiziert nach dem von Kull und Hentschel (1968) beschriebenen Verfahren. Für die Parallelversuche wurde stets Pflanzenmaterial gleicher Größe und gleichen Entwicklungszustandes ausgewählt. Blätter wurden in die markierten Zuckerlösungen eingestellt, Endosperm und Keimlinge eingetaucht. Die verwendeten Zuckerlösungen hatten eine Aktivität von 10 μCi .

Die Aufnahmezeit betrug 3 Std. Die Blätter wurden während dieser Zeit belichtet (Osram-Concentra-Lampe, Lichtintensität ca. 7000 Lux).

3. Extraktion

Zur Extraktion wurden die Pflanzenteile zerkleinert und anschließend zweimal mit 70 %igem Alkohol ausgekocht (alkoholischer Extrakt). Der nicht extrahierbare Rest wurde mit 2n HCl bei 100°C zwei Stunden im Einschlußröhrchen hydrolysiert (Hydrolysat). Das Hydrolysat wurde nach Abzentrifugieren des Unlöslichen noch eine Stunde nachhydrolysiert, um die noch verbliebenen Oligosaccharide vollständig zu spalten.

4. Trennverfahren

4.1. Papierchromatographie

Chromatographiert wurde absteigend auf Whatmanpapier Nr. 1 bei 25°C. Waren größere Substanzmengen zu trennen, wurde Papier von Schleicher und Schüll Nr. 2043 b oder Whatman Nr. 3 verwendet.

Als Laufmittel wurden benützt:

1. 88 % Phenol:Essigsäure:EDTA:Wasser = 840:10:1:160 (v/v)
2. n-Butanol:Wasser(Lösung 1):Propionsäure:Wasser(Lösung 2)
= 1:1 (v/v)
 Lösung 1: n-Butanol:Wasser = 750:50 (v/v)
 Lösung 2: Propionsäure:Wasser = 352:448 (v/v)
3. n-Butanol:Pyridin:Wasser:Eisessig = 60:40:30:3 (v/v)
4. n-Butanol:Äthylacetat:Eisessig:Wasser = 4:3:2,5:4 (v/v)
5. α-Picolin:Ammoniak:Wasser = 70:2:28 (v/v)

Für die zweidimensionale Papierchromatographie wurden diese Fließmittelgemische zu folgenden Systemen kombiniert:

System I: 1 + 2

System II: 2 + 3

System III: 1 + 3

System IV: 1 + 4

4.2. Hochspannungselektrophorese

Zur Identifizierung oder Reinigung von Substanzen wurde Hochspannungselektrophorese (Clotten 1962) in folgenden Puffersystemen durchgeführt:

1. 0,1 M Triäthylaminacetat pH 9,7
2. 0,1 M Ammoniumformiat pH 3,7
3. 0,05 M Natriumtetraborat pH 9,8 (Consden, Stanier, 1952)

Zur Elektrophorese wurde Papier von Schleicher und Schüll 2043 B verwendet.

4.3. Säulenchromatographie

Umbelliferose, Mannosylglucose, Mannitglucosid und Trehalose wurden im präparativen Maßstab durch Säulenchromatographie gewonnen. Es wurden folgende Säulen benutzt:

1. Kohle-Celite-Säule nach Whistler und Durso (1950) unter Verwendung eines linearen Alkoholgradienten, berechnet nach Alm et al. (1952).
2. Ionenaustauschersäule (Dowex 50 WX 2, 200 - 400 mesh, Li⁺ Form) nach Jones et al. (1960).

5. Lokalisierung von Substanzen auf den Papierchromatogrammen und Papierpherogrammen

Radioaktive Substanzen auf den Chromatogrammen und Pherogrammen wurden durch Radioautographie auf Agfa-Röntgenpapier oder Agfa-Röntgenfilm Curix RP lokalisiert.

Als Sprühreagenzien auf Zucker wurden verwendet:

1. Alkalisches Silbernitrat (Trevelyan und Procter, 1950)
2. Diphenyl-Harnstoff und Diphenylamin-p-Anisidin (Bailey, 1962).

6. Messung der Radioaktivität

6.1. Messung gelöster radioaktiver Substanzen

Bei den Photosyntheseversuchen mit $^{14}\text{CO}_2$ wurden aliquote Teile des Extraktes und des Hydrolysats in unendlich dünner Schicht mit einem fensterlosen Methandurchflußzählrohr bei einer Zählausbeute von 44 % gemessen.

Die Messung aller anderen gelösten radioaktiven Substanzen erfolgte im Scintillationszähler (Beckmann LS 250). Die wässrigen Lösungen wurden in einem Toluol-Cocktail folgender Zusammensetzung gezählt: 5 g PPO (= 2,5 Diphenyloxazol) in 1 l Toluol. Als Lösungsvermittler diente Methanol. Die Zählausbeute betrug 87 %.

6.2. Messung radioaktiver Substanzen auf Papierchromatogrammen und Papierpherogrammen

Von den Radioautogrammen wurden die aufgetretenen Flecken auf die radioaktiven Chromatogramme durchge-

zeichnet und mit einem großflächigen Methandurchflußzählrohr mit Endfenster ausgezählt. Die Zählausbeute betrug dabei wegen der hohen Selbstabsorption nur 8 %.

Die Lokalisierung der radioaktiver Verbindungen auf eindimensionalen Chromatogramstreifen erfolgte mit Hilfe eines Streifenzählers.

7. Darstellung von ^{14}C -Saccharose, ^{14}C -Galactinol und ^{14}C -Monosacchariden

Nach drei Stunden Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ wurden Blätter von *Lamium album* extrahiert. Das radioaktive Galactinol bzw. die radioaktive Saccharose und Stachyose wurden aus dem Extrakt chromatographisch isoliert und gereinigt. Es wurden dabei die Laufmittel 2, 3 und 5 verwendet. Aus ^{14}C -Stachyose wurde nach enzymatischer Hydrolyse ^{14}C -Glucose, ^{14}C -Fructose und ^{14}C -Galactose gewonnen.

8. Verschiedene Methoden zur Analyse der Oligosaccharide

8.1. Hydrolyse der Oligosaccharide

8.1.1. Säurehydrolyse der Oligosaccharide

Vollständige Säurehydrolyse: Zur vollständigen Hydrolyse wurden die Oligosaccharide mit 1n HCl im Einschlußrohr (Violaxröhrchen) bei 100°C 1 Std. erhitzt (Ausnahme Trehalose: 7 Std.). Anschließend wurde die Säure nach Zugabe von Methanol ohne Erwärmung abgeblasen.

Anstelle von HCl wurde auch H_2SO_4 verwendet. Nach der Hydrolyse wurde die Schwefelsäure mit BaCO_3 neutralisiert, das ausgefallene BaSO_4 abzentrifugiert und der Überstand eingeeengt.

Partielle Säurehydrolyse: Zur partiellen Säurehydrolyse wurden die Oligosaccharide mit 0,01n HCl (oder 0,01n H_2SO_4) im Einschlußrohr bei 100°C, 30 Min. erhitzt.

8.1.2. Enzymatische Hydrolysen der Oligosaccharide

Die zu spaltenden Oligosaccharide wurden in 100 µl Puffer gelöst und nach Zugabe von 20 µl Enzym bei 32°C, 3 Std. inkubiert. Im einzelnen wurden folgende Enzyme verwendet:

1. β -Fructosidase aus Hefe, 1 % Lösung in 0,1 M Acetatpuffer pH 5,0
2. α -Galactosidase aus grünen Kaffeebohnen, Enzymsuspension (5 mg/ml, 10 U/mg), inkubiert in 0,1 M Acetatpuffer pH 5,5
3. α -Glucosidase aus Hefe, Enzymsuspension (2 mg/ml, 50 U/mg), inkubiert in 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,0
4. β -Glucosidase aus Mandeln, Enzymsuspension (5 mg/ml, 40 U/mg), inkubiert in 0,1 M Acetatpuffer pH 5,0
5. α -Mannosidase aus *Canavalia ensiformis* (Papilionaceae), Enzymsuspension (5 mg/ml, 15 U/mg) inkubiert in 0,1 M Citratpuffer pH 4,5
6. Emulsin, Enzymgemisch aus Mandeln, 1 % Lösung in 0,1M Acetatpuffer pH 5,0

8.2. Verhalten von Oligosacchariden gegen Alkali

Reduzierende und nicht reduzierende Oligosaccharide wurden durch 1-stündiges Erhitzen bei 100°C in 1n NaOH unterschieden. Nicht reduzierende Oligosaccharide blieben dabei unzerstört.

8.3. Bestimmung der optischen Drehung von Oligosacchariden

$[\alpha]_D^{20}$ -Werte von Oligosacchariden wurden berechnet nach der Formel:

$$[\alpha]_D^{20}(\text{H}_2\text{O}) = \frac{\alpha \times v}{l \times g}; (c)$$

α = gemessene Drehung im Polarimeter

v = Volumen (1 cm^3) des Polarimeterrohres

l = Länge (1 dm) des Polarimeterrohres

g = Oligosaccharidmenge g

c = g Oligosaccharid / 100 ml H_2O

9. Quantitative Bestimmungen

Sämtliche quantitativ zu bestimmenden Zucker waren papierchromatographisch vorgereinigt.

9.1. Monosaccharide

Glucose wurde mit Hexokinase und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase bestimmt (Bergmeyer, 1970). Daneben wurde Glucose auch mit Glucoseoxidase colorimetrisch gemessen (Biochemica Test Combination Fa. Boehringer).

Fructose wurde nach Inkubation mit Hexokinase und Phosphoglucose-Isomerase wie Glucose bestimmt (Bergmeyer, 1970).

Galactose wurde mit Galactosedehydrogenase bestimmt (Kurz, Wallenfels in Bergmeyer, 1970).

Mannose wurde nach Inkubation mit Hexokinase und Phosphomannose-Isomerase wie Fructose bestimmt (Gawehn in Bergmeyer, 1970).

Arabinose wurde mit Galactosedehydrogenase wie Galactose bestimmt.

9.2. Oligosaccharide

Saccharose,

Umbelliferose,

Raffinose

wurden mit Emulsin gespalten und je nach Anzahl der Teste Glucose oder Galactose bestimmt.

Galactinol

wurde mit α -Galactosidase gespalten und die Galactose bestimmt.

Trehalose

wurde mit Anthron (Snell, 1955) bestimmt.

Mannosylglucose

wurde mit α -Glucosidase gespalten und die Glucose bestimmt.

Mannitglucosid

wurde mit β -Glucosidase gespalten und die Glucose bestimmt. Mannit wurde mit Perjodat gespalten und der entstehende Formaldehyd mit Hilfe der Chromotropsäuremethode bestimmt (Speck, 1962).

10. Enzympräparationen aus Umbelliferen

10.1. Versuchsmaterial

Zur Durchführung der Versuche wurden Pflanzenteile von Umbelliferen verwendet, in denen eine verstärkte Umbelliferosesynthese nachgewiesen war. Es waren dies Blättern von *Aegopodium podagraria*, Endosperm aus Früchten von *Carum carvi* und Keimlinge von *Carum carvi*.

10.2. Isolierung und Reinigung der UDP-Galactose:

Saccharose 2-Galactosyltransferase

Alle Schritte wurden bei 0 - 4°C durchgeführt.

10.2.1. Bereitung des Rohextraktes aus Blättern von *Aegopodium podagraria*

15 g Blätter wurden nach Eintauchen in flüssigen Stickstoff in einer gut gekühlten Reibschale pulverisiert. Das noch gefrorene Pulver wurde mit unlöslichem Polyvinylpyrrolidon (Loomis, 1966) im Verhältnis 1:1 (g:g) vermischt und anschließend mit 100 ml, 0,1 M Tris-HCl-Puffer, pH 7,5 und 0,01 M Dithioerythrit (DTE, Clelands Reagenz) extrahiert. Das Homogenat wurde dann durch Verbandmull in ein Becherglas gepreßt und in einer Kühlzentrifuge bei 15000 x g 10 Min. zentrifugiert.

10.2.2. Bereitung des Rohextraktes aus Früchten von *Carum carvi*

50 g reife Früchte wurden einige Minuten im Starmix behandelt. Es erfolgte dabei ein Zerschlagen der Fruchtwand, so daß anschließend mit einem Sieb Fruchtwandreste und Endosperm durch Waschen getrennt werden konnten. Das Endosperm wurde dann getrocknet und mit einer Kaffeemühle zu feinem Pulver gemahlen. Diese Pulver wurden wie unter 10.2.1. beschrieben extrahiert.

10.2.3. Bereitung des Rohextraktes aus Keimlingen von *Carum carvi*

1-2 cm große Keimlinge (etwa 12 Tage alt) wurden nach Eintauchen in flüssigen Stickstoff in einer gut gekühlten Reibschale pulverisiert. Die im Pulver befindlichen Fruchtwandreste wurden mit Hilfe eines Siebes abgetrennt. Anschließend wurde dieses Pulver wie unter 10.2.1. beschrieben extrahiert.

10.2.4. Fraktionierung mit Ammoniumsulfat

Dem Rohextrakt wurden unter ständigem Rühren festes Ammoniumsulfat bis zu einer Konzentration von 35 % zugegeben und nach 10 Min. Rühren der Niederschlag bei 15000 x g abzentrifugiert. Der Überstand wurde dann in der gleichen Weise auf einen Sättigungsgrad von 55 % gebracht und nach 10 Min. Rühren die Suspension bei 15000 x g zentrifugiert. Der so erhaltene Protein-niederschlag wurde in 1-2 ml 0,1 M Tris-HCl, pH 7,5 mit 0,01 M DTE aufgenommen.

10.2.5. Reinigung mit Sephadex G-25

Die 1-2 ml Proteinlösung wurden auf eine Sephadex-G-25 Säule (15 x 1 cm) gegeben und das Protein mit 0,1 M Tris-HCl, pH 7,5 mit 0,01 M DTE eluiert. Die Spitzenfraktion, die das gesamte Protein enthielt, wurde zu den Inkubationen verwendet.

10.3. Bestimmung der Enzymaktivität

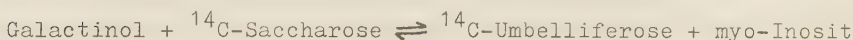
Die Tests wurden in Violaxröhrchen ausgeführt. Die Substrate der einzelnen Tests waren in 50 µl 0,1 M Tris-HCl, pH 7,5 mit 0,01 M DTE gelöst. Die Menge der eingesetzten Substrate betrug: 2,5 µCi ^{14}C -Saccharose (60 µCi/µMol), 0,25 µCi UDP-Galactose- ^{14}C (273 µCi/µMol), 0,1 µCi ^{14}C -Umbelliferose (17 µCi/µMol), 0,1 µCi ^{14}C -Raffinose (23 µCi/µMol), 0,1 µCi ^{14}C -Trehalose (413 µCi/µMol).

Die Menge aller anderen eingesetzten Substrate betrug jeweils 1 µMol. Die Menge des zugesetzten Protein betrug 100 µl (Blätter 10 mg Protein/ml, Früchte 20 mg Protein/ml, Keimlinge 12 mg Protein/ml).

Nach Inkubation von 1-4 Std. bei 32°C wurde die Reaktion mit 0,8 ml Äthanol gestoppt, das ausgefallene Protein abzentrifugiert und der Überstand papierchromatographisch aufgetrennt.

10.3.1. Bestimmung der Syntheseaktivität

Test 1 beruht auf der Messung von ^{14}C -Umbelliferose, die durch eine mögliche Übertragung der Galactose von Galactinol auf ^{14}C -Saccharose entsteht.



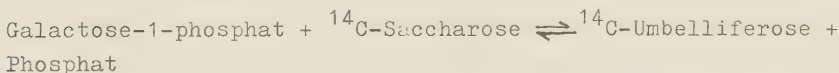
Test 2a beruht auf der Messung von ^{14}C -Umbelliferose, die durch eine mögliche Übertragung der Galactose von UDP-Galactose auf ^{14}C -Saccharose entsteht.



Test 2b beruht auf der Messung von ^{14}C -Umbelliferose, die durch die mögliche Übertragung der ^{14}C -Galactose von UDP-Galactose auf Saccharose entsteht.



Test 3 beruht auf der Messung von ^{14}C -Umbelliferose, die durch eine mögliche Übertragung der Galactose von Galactose-1-phosphat auf ^{14}C -Saccharose entsteht.



10.3.2. Bestimmung der Austauschreaktion

Test 4 beruht auf der Messung von ^{14}C -Umbelliferose, die durch eine mögliche Übertragung des Galactosylrestes von Umbelliferose auf ^{14}C -Saccharose entsteht.



Test 5 beruht auf der Messung von ^{14}C -Umbelliferose, die durch eine mögliche Übertragung des Galactosylrestes von Raffinose auf ^{14}C -Saccharose entsteht.

$$\text{Raffinose} + ^{14}\text{C}\text{-Saccharose} \rightleftharpoons ^{14}\text{C}\text{-Umbelliferose} + \text{Saccharose}$$

10.3.3. Bestimmung anderer Enzymaktivitäten

Test 6 Bestimmung der α -Galactosidaseaktivität. Für die Erfassung der α -Galactosidase wurde U- ^{14}C -Umbelliferose als Substrat verwendet. Nach der Inkubation mit Enzym wurde die freigesetzte ^{14}C -Galactose gemessen.

Test 7 Bestimmung der Invertaseaktivität. Für die Erfassung der Invertase (β -Fructofuranosidase) wurde U- ^{14}C -Saccharose als Substrat verwendet. Nach der Inkubation mit Enzym wurde die freigesetzte ^{14}C -Fructose gemessen.

Test 8 Bestimmung der UDP-Galactose-4-Epimerase. Für die Erfassung dieser Epimerase wurde UDP-Galactose- ^{14}C als Substrat verwendet. Nach der Inkubation mit Enzym wurde das Gemisch mit 1n HCl 10 Min. hydrolysiert und nach chromatographischer Trennung das Verhältnis von ^{14}C -Galactose zu ^{14}C -Glucose bestimmt.

Test 9 Bestimmung der Trehalaseaktivität. Für die Erfassung dieser Hydrolase wurde U- ^{14}C -Trehalose als Substrat verwendet. Nach Inkubation mit Enzym wurde die freigesetzte ^{14}C -Glucose gemessen.

10.4. Proteinbestimmung

Zur Erfassung der Proteinkonzentration diente die Bestimmung der Trübung, die durch die Fällung des

Proteins mit 10 %iger Trichloressigsäure hervorgerufen wird. Als Standardprotein wurde Rinderserumalbumin verwendet.

11. Chemikalien

Alle Enzyme, mit Ausnahme von Emulsin, wurden von der Fa. Boehringer, Mannheim bezogen. Emulsin stammte von der Nutritional Biochemical Corporation.

Unlösliches Polyvinylpyrrolidon lieferten die Bio-Rad-Laboratories. Die Isotopen U-¹⁴C-Mannose, UDP-Galactose-U-¹⁴C, U-¹⁴C-Trehalose wurden vom Radiochemical Centre, Amersham, England, gekauft. Sämtliche anderen Chemikalien stammten von den Firmen Boehringer, Merck, Roth und Schuchardt.

III. Ergebnisse

1. Identifizierung von Kohlenhydraten in Umbelliferen

1.1. Identifizierung von Oligosacchariden

1.1.1. Isolierung und Identifizierung von Umbelliferose aus Früchten von Carum carvi

Im alkoholischen Extrakt aus Früchten von Carum carvi wurde bei der papierchromatographischen Analyse eine Verbindung erhalten, die in den Lösungsmitteln 1-4 jeweils einen halben "Fleck" weiterwanderte als authentische Raffinose. Es bestand die Vermutung, daß es sich um das von Wickstrom und Svendsen (1956) beschriebene und benannte Raffinose-Isomere Umbelliferose (Galactose 1-2 Glucose 1-2 Fructose) handelt.

Folgende Reaktionen sprachen für diese Annahme:

1. Papierchromatographische Analyse: Wickstrom und Svendsen gaben für Umbelliferose und Raffinose folgende Laufwerte in Bezug auf Saccharose ($R_f = 1,00$) in dem Laufmittel Isopentanol:Pyridin:Wasser = 7:7:6 (v/v) an: Raffinose = 0,62 und Umbelliferose = 0,70. Die unbekannte Verbindung verhielt sich in diesem Laufmittel wie Umbelliferose.

2. Totalhydrolyse: (1n HCl, 60 Min.) lieferte Galactose, Glucose und Fructose.
3. Partialhydrolyse: (0,01n HCl, 40 Min.) ergab Isomelibiose (Galactose 1-2 Glucose) und Fructose. Isomelibiose konnte in Boratelektrophorese pH 9,8 von Melibiose getrennt werden. (Werte in Bezug auf Glucose, $R_G = 1,00$); Melibiose = 0,78 und Isomelibiose = 0,32. Totalhydrolyse von Isomelibiose ergab Galactose und Glucose.
4. Enzymatische Spaltung: Nach Untersuchungen von Wickstrom und Svendsen (1956) wird Umbelliferose von Invertase nicht, von α -Galactosidase jedoch in Saccharose und Galactose gespalten. Die unbekannte Verbindung konnte ebenfalls nicht mit Invertase gespalten werden, während sie α -Galactosidase in Galactose und Saccharose spaltete. Letztere konnte dann mit Invertase in Glucose und Fructose gespalten werden. Die quantitative Bestimmung der Hydrolysenprodukte ergab ein Molverhältnis von Glucose:Fructose: Galactose = 1:1:1.
5. Reduktionsvermögen: Umbelliferose ist ein nicht-reduzierendes Trisaccharid. Beim Besprühen mit acetonischer Silbernitratlösung (Trevelyan, 1950) ergab auch die unbekannte Substanz erst nach Behandlung mit Wasserdampf die für Kohlenhydrate typische Braunfärbung. Die nichtreduzierende Eigenschaft konnte weiterhin durch Erhitzen mit 1n NaOH nachgewiesen werden; die Substanz blieb dabei unzerstört.
6. Wickstrom und Svendsen ermittelten für Umbelliferose einen Drehwert zwischen $[\alpha]_D^{20}(\text{H}_2\text{O}) = + 121^\circ$ und $+ 125^\circ$. Als Drehwert der unbekannten Substanz wurden $[\alpha]_D^{20}(\text{H}_2\text{O}) = + 124^\circ$ (c = 1,5) gemessen.

Damit stimmen alle beschriebenen Eigenschaften der Umbelliferose mit der von uns untersuchten Substanz überein.

Isolierung von Umbelliferose

Umbelliferose wurde aus Früchten von *Carum carvi* gewonnen. Die gemahlene Frucht wurde mit Aceton von Fetten und ätherischen Ölen befreit und mit 70 %igem Alkohol 3mal extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden unter Vakuum eingeengt. Die gelösten Proteine wurden unter Zugabe von 96 %igem Alkohol bis zu einer Endkonzentration von 80 % ausgefällt. Anschließend wurde wieder eingeengt und nach Gefriertrocknung wurde das Gemisch der Zucker als braunes Pulver erhalten.

Die Trennung mit der Kohle-Celite-Säule (1:1) erfolgte mit linear ansteigendem Alkoholgradienten im offenen System nach Whistler und Durso (1950). Pro 150 cm³ Säulenvolumen wurde 1 g Zuckergemisch aufgetragen. In den Fraktionen wurde der Zuckergehalt unter Verwendung des Anthronreagenzes nach Snell (1955) bestimmt und gleichzeitig die Zucker durch Papierchromatographie in Laufmittel 3 qualitativ nachgewiesen (Abb. 1). Die Umbelliferose-haltigen Fraktionen wurden nach dem Einengen gefriergetrocknet. Umbelliferose wurde als weißes, hygroskopisches Pulver erhalten. Eine Kristallisierung gelang uns ebensowenig wie den Entdeckern.

1.1.2. Isolierung und Identifizierung von drei Oligosacchariden aus Früchten von *Carum carvi*

Die papierchromatographische Analyse des Zuckergemisches aus Früchten von *Carum carvi* ergab neben Umbelliferose

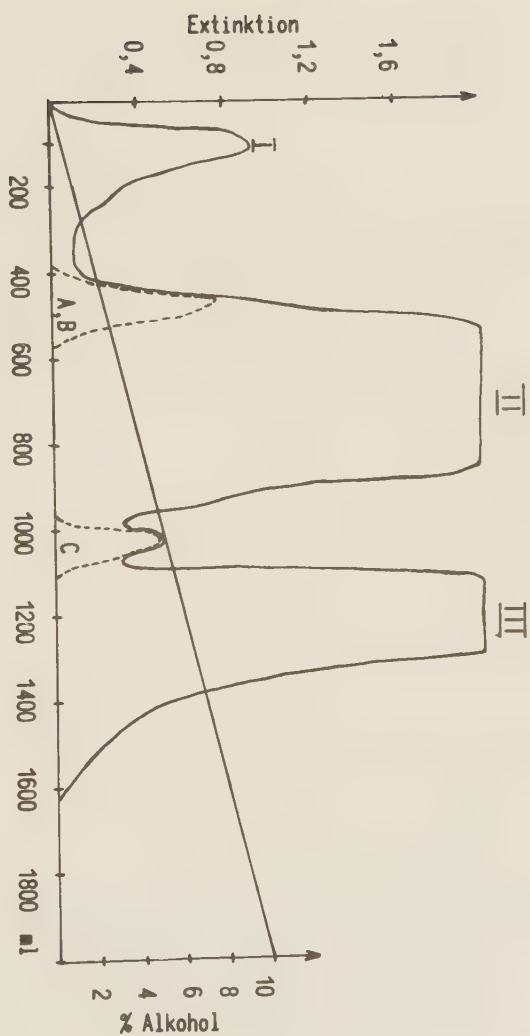


Abb. 1

Diagramm der säulenchromatographischen Trennung des Fruchtextraktes von *Garum carvi*. Kohle-Gelite-Säule, 50 x 3 cm.

I = Glucose und Fructose, II = Saccharose, III = Umbelliferose

A, B = Trehalose und Glucosylmannose, C = Mannitglucosid

Saccharose, Glucose und Fructose einen "Fleck", der in den Lösungsmitteln 1-4 wie Trehalose wanderte und deshalb als Oligosaccharid angesprochen wurde. Die Borat-elektrophorese (pH 9,8) dieses Fleckes ergab eine Auftrennung in drei Oligosaccharide (Werte in Bezug auf Glucose, $R_G = 1,00$) : Oligosaccharid A = 0,18, Oligosaccharid B = 0,38 und Oligosaccharid C = 0,65. Alle drei Oligosaccharide erwiesen sich als nicht reduzierend. Ihre nicht reduzierende Eigenschaft wurde in gleicher Weise wie bei Umbelliferose nachgewiesen.

Die Elutionsfolge der drei Oligosaccharide von der Kohlesäule (Abb. 1), sowie ihre Position auf den Papierchromatogrammen entsprach dem Verhalten von Disacchariden.

Identifizierung von Oligosaccharid A

Oligosaccharid A konnte aufgrund folgender Reaktionen als Trehalose identifiziert werden:

1. Totalhydrolyse mit 1n HCl, 60 Min. lieferte nur Glucose; die Hydrolyse war erst nach 240 Min. vollständig, so daß das Oligosaccharid wie Trehalose als relativ schwer hydrolysierbar angesprochen werden muß.
2. Spaltungsversuche mit α - und β -Glucosidase verliefen negativ. Mit Trehalase-haltigem Emulsin konnte Oligosaccharid A ebenso wie Trehalose in Glucose gespalten werden.
3. Eine definierte Menge dieses isolierten Oligosaccharides wurde hydrolysiert und anschließend die Glucose enzymatisch bestimmt. Die gefundene Glucosemenge entsprach der eingesetzten Substanzmenge, wenn man die H_2O -Anlagerung bei der Hydrolyse berücksichtigt.

4. Das Oligosaccharid ist nicht reduzierend.
5. Cochromatographie von Oligosaccharid A mit authentischer Trehalose ergab in den Lösungsmitteln 1-4 völlige Übereinstimmung.

Identifizierung von Oligosaccharid B

Oligosaccharid B konnte aufgrund folgender Reaktion als Mannose 1 α - α -Glucose (= Glucosylmannose) identifiziert werden:

1. Totalhydrolyse mit 1n HCl, 60 Min. lieferte Glucose und Mannose. Bei Partialhydrolyse mit 0,01n HCl, 40 Min. wurde Oligosaccharid B nur teilweise hydrolysiert; ein Hydrolysenzwischenprodukt trat nicht auf.
2. Oligosaccharid B wurde von α -Glucosidase und α -Mannosidase gespalten, nicht dagegen von β -Glucosidase. Die quantitative Bestimmung von Glucose:Mannose ergab ein Molverhältnis von 1:1.
3. Das Oligosaccharid B ist nicht reduzierend.

Identifizierung von Oligosaccharid C

Oligosaccharid C konnte aufgrund folgender Reaktionen als Mannit-1 β -Glucose (Mannitglucosid) identifiziert werden:

1. Totalhydrolyse mit 1n HCl, 60 Min. lieferte Glucose und Mannit. Bei Partialhydrolyse mit 0,01n HCl, 40 Min. wurde Oligosaccharid C nur teilweise hydrolysiert; ein Hydrolysenzwischenprodukt trat nicht auf.
2. Oligosaccharid C wurde von α -Glucosidase und α -Mannosidase nicht gespalten. β -Glucosidase spaltete Oligosaccharid C in Glucose und Mannit. Die quantitative Bestimmung von Glucose:Mannit ergab ein

Molverhältnis von 1:1.

3. Er wurde nicht bestimmt welches C-Atom des Mannits die glycosidische Bindung mit Glucose bildet.
4. Das Oligosaccharid ist nicht reduzierend.

Isolierung der Oligosaccharide A, B und C

Alle drei Oligosaccharide traten als Nebenprodukte bei der Umbelliferoseisolierung aus Früchten von *Carum carvi* auf. Oligosaccharid A und B wurden gemeinsam mit etwa 2 % Alkohol von der Kohlesäule eluiert. Die gesammelten Fraktionen waren mit Saccharose verunreinigt. Die Saccharose wurde enzymatisch mit Invertase in Glucose und Fructose gespalten; deren Abtrennung von Oligosaccharid A und B erfolgte auf einer Ionenaustauschersäule (Dowex 50 WX2, 200 - 400 mesh, Li^+) mit destill. Wasser nach Jones et al. (1960). Die Säule mit den Ausmaßen von 200 x 2 cm wurde mit 0,5 g Zuckerkonzentrat beladen. Die Vorteile gegenüber der Kohle-Celite-Säule lagen im wesentlich geringeren Elutionsvolumen, Salzfreiheit der Eluate und kürzerer Elutionsdauer. Da eine säulenchromatographische Trennung von Oligosaccharid A und B nicht gelang, konnten beide Oligosaccharide nur in kleineren Mengen papierelektrophoretisch getrennt werden und isoliert werden.

Oligosaccharid C wurde mit etwa 5 % Alkohol von der Kohlesäule eluiert. Es war noch mit Saccharose und Umbelliferose verunreinigt. Die weitere Reinigung von Oligosaccharid C erfolgte mit Hilfe der Ionenaustauschersäule.

1.2. Isolierung und Charakterisierung des Endosperm-polysaccharides aus Früchten von Carum carvi

Im stärkefreien Endosperm der Umbelliferen sind fette Öle und Protein gespeichert. Gleichzeitig sind die Zellwände des Endosperms hornartig verdickt. Die chemische Zusammensetzung des Reservepolysaccharides ist bisher nicht untersucht worden (Hegnauer, 1970).

1.2.1. Isolierung des Endosperms

Trockenen Früchten von Carum carvi wurde im Mixer die Fruchtwand abgeschlagen. Durch anschließendes Waschen konnten Fruchtwand und Endosperm weitgehend getrennt werden. Das Endosperm wurde getrocknet und anschließend fein gemahlen. Mit Aceton und Petroläther wurden die fetten Öle, durch mehrmaliges Kochen mit 70 % Alkohol und dest. Wasser die Zucker und andere lösliche Verbindungen entfernt. Getrocknet lag das Endosperm-polysaccharid als weißliches Pulver vor. Die abgetrennte Fruchtwand wurde bei gleichem Reinigungsverfahren als braunes Pulver erhalten.

1.2.2. Charakterisierung des Endosperms

1. Hydrolyse mit $2n\ H_2SO_4$, $100^{\circ}C$, 12 Std. (Abb. 2a,b)
Als Hydrolysenprodukte des Endosperms traten vorwiegend Mannose, daneben Galactose, Glucose, Galacturonsäure und Arabinose auf. Die Hydrolyse von Endosperm und Fruchtwand bei unreifen Früchten, wo eine vollständige Trennung möglich war, zeigte, daß reines Endosperm bei der Hydrolyse im Gegensatz zu obiger Analyse keine Xylose, Glucose und Galacturonsäure lieferte. Letztere konnte als Maßstab für die Verunreinigung mit Fruchtwandmaterial angesehen werden.

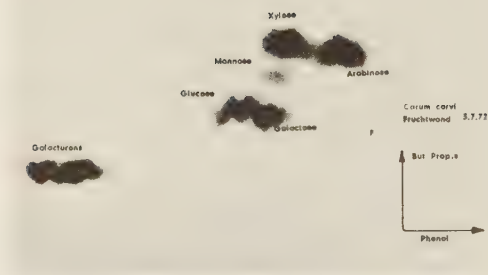


Abb. 2a Papierchromatogramm von Zuckern, die nach 12 Std. Hydrolyse mit $2n\ H_2SO_4$ bei $100^\circ C$ aus der Fruchtwand von *Carum carvi* freigesetzt worden sind. Sichtbarmachung der Zucker mit Silbernitrat nach Trevelyan, 1950.

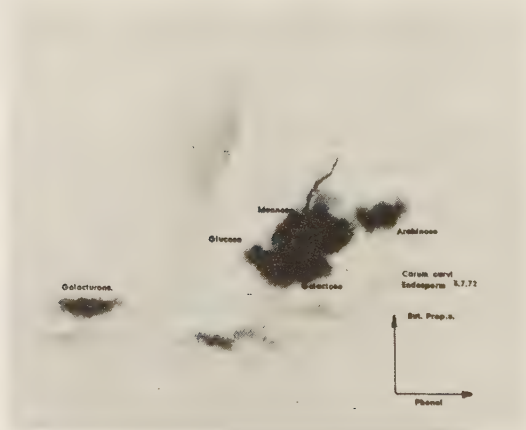


Abb. 2b Wie Abb. 2a, jedoch Zucker aus der Hydrolyse des Endosperms von *Carum carvi*.

2. Partialhydrolyse mit 0,1n H_2SO_4 , 100°C, 60 Min.
Nach Partialhydrolyse des Endospermpolysaccharides konnten papierchromatographisch neben den Monosacchariden drei Oligosaccharide nachgewiesen werden. Ihre Hydrolyse ergab jeweils Mannose, Galactose und Arabinose.
3. Hydrolysenkinetik mit 2n H_2SO_4 , 100°C, 1,2,4 Std.
Die Abb. 3a zeigt, daß Galactose und Arabinose bereits nach 1 bis 2 Std. Hydrolyse vollständig freigesetzt sind. Der Abfall nach 4 Std. stellte die normale Zerstörungsrate beider Zucker durch Säure dar. Mannose hingegen stieg über die ganze Zeitdauer an. Bei Versuchsende war noch nicht alles Endospermpolysaccharid hydrolysiert.
4. Fraktionierung des Endospermpolysaccharides.
Eine Reihe von Versuchen ergab, daß mit 4 %iger NaOH eine Trennung in eine alkalilösliche Polysaccharidkomponente und ungelöstes, höhermolekulares Polysaccharid möglich war. Das Gewichtsverhältnis von gelöstem Polysaccharid zu ungelöstem betrug 1:40 bis 1:50. Die Hydrolysenkinetik (Abb. 3c) der löslichen Komponente ergab Mannose, Arabinose und Galactose, während das ungelöste Polysaccharid (Abb. 3b) praktisch nur Mannose enthielt. Der Verlauf der Kinetik entsprach dem des unfraktionierten Endosperms.
5. Enzymatische Hydrolyse des Endospermpolysaccharides.
Das alkaliunlösliche Polysaccharid wurde für enzymatische Hydrolysen verwendet. Es wurde von α -Galactosidase aus grünen Kaffeebohnen, (Courtois et al., 1966), von α -Mannosidase aus *Canavalia ensiformis*, (Li et al., 1972) und von Emulsin (Lee, 1972) nicht gespalten. Mit einer Enzympräparation aus

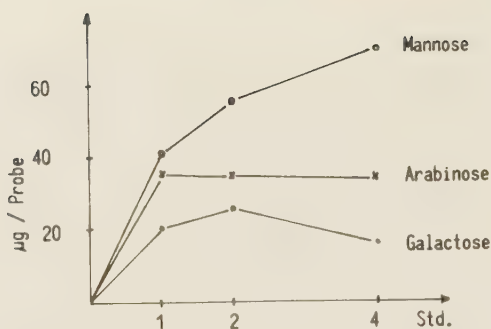


Abb. 3a Kinetik der Hydrolyse des Endospermmpolysaccharides von *Carum carvi* mit 2n H_2SO_4

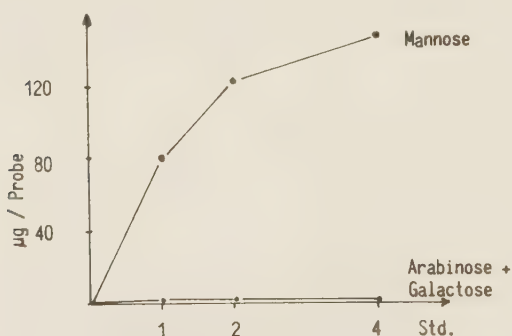


Abb. 3b Kinetik der Hydrolyse des in 4 % NaOH nicht löslichen Endospermmpolysaccharides von *Carum carvi* mit 2n H_2SO_4

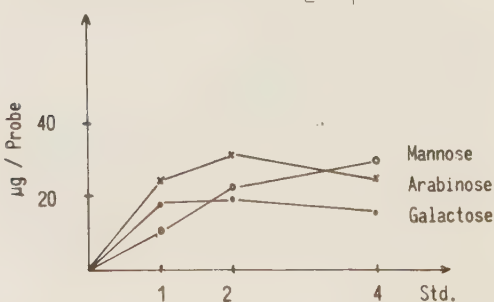


Abb. 3c Kinetik der Hydrolyse des in 4 % NaOH gelösten Endospermmpolysaccharides von *Carum carvi* mit 2n H_2SO_4

Keimlingen von *Carum carvi* (s. II, 10.2.3.) konnte das Polysaccharid in eine Reihe von Oligosacchariden gespalten werden, die bisher noch nicht näher untersucht sind.

1.2.3. Zusammenfassung

Das Endospermpolysaccharid von *Carum carvi* setzt sich aus zwei Komponenten zusammen. Die Hauptkomponente besteht fast nur aus Mannose, die weniger hochmolekulare Nebenkomponekte aus Mannose, Galactose und Arabinose. Das Endospermpolysaccharid kann daher als Mannan bezeichnet werden. Apiose, die Crowden et al. (1969) gelegentlich in Polysacchariden von Umbelliferen fanden, konnte nicht nachgewiesen werden.

2. Verbreitung von Kohlenhydraten bei Umbellifloren

2.1. Verbreitung von Umbelliferose in Blättern, Sprossen, Speicherorganen und Früchten von Umbelliferen

Abgesehen von vereinzelt quantitativen Bestimmungen von Umbelliferose (Hiller 1969) fehlen Angaben über ihren Gehalt in verschiedenen Umbelliferen und über ihre Verteilung innerhalb der Pflanzen.

In Blättern, Sprossen, Speicherorganen (Wurzeln, Ausläufer, Rhizome) und Früchten von Umbelliferen aus dem Botanischen Garten München wurden Umbelliferose, Saccharose, Glucose und Fructose qualitativ und quantitativ bestimmt.

Grundsätzlich wurde bei allen untersuchten Umbelliferen Umbelliferose gefunden; Raffinose und Galactinol waren nur in Spuren vorhanden und konnten nicht quantitativ bestimmt werden. Der dominierende Zucker war stets

Saccharose, während Glucose und Fructose nur in geringer und etwa gleicher Menge auftraten. Daher ist in den Tabellen nur Glucose angegeben. Wegen der bekannten Abhängigkeit der Oligosaccharidbildung von der Jahreszeit wurden bei Blättern und Speicherorganen Untersuchungen zu zwei verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt.

2.1.1. Verbreitung von Umbelliferose in Blättern

Von den im Frühjahr (Mai 1971) und Herbst (Sept. 1971) untersuchten Blättern (Tab.1a) enthielten die meisten nur wenig Umbelliferose (1-5 mg/g Fgw.). Ausnahmen bildeten z.B. die Nummern 22, 40, 56, 78, 80 mit mehr als 10 mg/g Fgw. Gleichzeitig fiel auf, daß bei niedrigem Umbelliferosegehalt kein wesentlicher Unterschied in den beiden Monaten festzustellen war. Neben der Bestimmung der Absolutmenge der Zucker wurde die von Kandler (1964) beschriebene Isotopenmethode angewendet: Nach 30 bzw. 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ wurden die Blätter extrahiert, papierchromatographisch analysiert und der Prozentgehalt der ^{14}C -markierten Kohlenhydrate bestimmt. Aus der Tab. 2 kann man folgende Ergebnisse entnehmen:

Alle untersuchten Arten synthetisierten Umbelliferose. 2/3 davon waren schlechte Umbelliferosebildner (weniger als 5 % Anteil), nur 1/3 gute (mehr als 5 % Anteil). Die Umbelliferosesynthese setzte bereits bei jungen Blättern kurz nach dem Ergrünen ein (Nr. 53, 56) und dauerte das ganze Jahr über an, ohne daß ein Schwerpunkt erkennbar wäre. Bei allen schlechten Umbelliferosebildnern hatte die Saccharose einen Anteil von mehr als 70 %, bei allen guten einen von weniger als 70 %.

Tab. 1 Zusammenstellung der untersuchten Umbelliferen.
Anordnung in Unterfamilien und Triben nach Engler,
Syllabus der Pflanzenfamilien.

Unterfam. Hydrocotyloideae

- Tribus 1 Hydrocotyleae
Hydrocotyle dissecta Hook.
Tribus 2 Mulineae
Azorella trifurcata Pers., Bowlesia incana R. et P.

Unterfam. Saniculoideae

- Tribus 1 Saniculeae
Hacquetia epipactis (Scop.) DC, Astrantia maior L.,
Eryngium giganteum Bieb.

Unterfam. Apiioideae

- Tribus 2 Scandiceae
Chaerophyllum bulbosum L., Anthriscus cerefolium (L.) Hoffm.,
Scandix pecten-veneris L., Myrrhis odorata (L.) Scop.,
Orlaya grandiflora (L.) Hoffm., Smyrniolus olusatrum L.,
S. perfoliatum L.
Tribus 3 Coriandreae
Coriandrum sativum L., Bifora radians Bieb.
Tribus 4 Smyrnieae
Conium maculatum L., Pleurospermum austriacum (L.) Hoffm.
Tribus 5 Apieae
Bupleurum ranunculoides L., B. rotundifolium L., Trinia
kitaibellii Bieb., Apium graveolens L., A. repens (Jacq.)
Rchb. R., Petroselinum crispum (Miller) A.W. Hill,
Cicuta virosa L., Cryptotaenia japonica Hassk., Ammi
maius L., Falcaria vulgaris Bernh., Carum carvi L.,
Pimpinella siifolia Leresche, P. peregrina L., P. saxifraga
L., Aegopodium podagraria L., Sium sisarum L., Seseli
glaucum L., Oenanthe crocata L., O. aquatica (L.) Poir.,
Aethusa cynapium L., Foeniculum vulgare Millier, Anethum
graveolens L., Silaus tenuifolius DC., Ligusticum
muttelina (L.) Crantz
Tribus 6 Peucedaneae
Archangelica officinalis Hoffm., Levisticum officinale Koch.,
Ferula narthex Boiss. P., Dorema ammoniacum D. Don.,
Peucedanum ostruthium L. (Koch), Pastinaca sativa L.
Heracleum sphodylium L.,
Tribus 7 Laserpitieae
Siler trilobum Crantz, Laserpitium siler L., L. hispidum
Bieb.
Tribus 8 Dauceae
Daucus carota L.

Tab.1a Quantitative Bestimmung von Umbelliferose, Saccharose und Glucose in mg/g Frischgewicht in Blättern von Umbelliferen; im Mai und September 1971. Anordnung in Unterfamilien und Triben nach Engler, Syllabus der Pflanzenfamilien.

Nr.	Art	(- = nicht untersucht)					
		Umbellif.		Sacchar.		Glucose	
		Mai	Sept.	Mai	Sept.	Mai	Sept.
Unterfam. Hydrocotoyloideae							
Tribus 2 Mulinaceae							
5	Bowlesia incana	-	27,2	-	7,4	-	2,6
6	Azorella trifurcata	1,5	1,3	14,6	17,3	2,5	3,1
Unterfam. Saniculoideae							
Tribus 1 Saniculeae							
12	Hacquetia epipactis	1,0	0,7	52,9	24,5	2,3	3,6
13	Astrantia maior	0,8	0,9	51,0	42,2	7,3	12,4
14	Eryngium giganteum	1,3	0,8	44,1	9,6	3,8	3,3
Unterfam. Apioideae							
Tribus 2 Scandiceae							
22	Chaerophyllum bulbosum	19,0	3,8	45,0	23,4	0,1	1,1
23	Anthriscus cerefolium	6,0	3,3	50,6	23,8	0,9	0,9
26	Myrrhis odorata	18,2	6,6	50,8	46,8	5,8	2,2
Tribus 4 Smyrnieae							
35	Smyrniolum olusatrum	1,7	4,4	52,7	49,0	0,7	12,7
37	Conium maculatum	0,8	-	51,5	-	0,3	-
40	Pleurospermum austriacum	23,4	1,8	48,9	47,2	6,8	4,7
Tribus 5 Apieae							
43	Bupleurum fruticosum	0,6	0,8	34,1	12,8	0,7	0,5
44	Trinia kitaibellii	5,1	1,5	28,6	47,2	8,7	7,1
46	Apium graveolens	-	2,6	-	29,6	-	5,1
47	Petroselinum crispum	1,5	1,8	55,4	45,4	4,4	8,6
52	Falcaria vulgaris	1,2	0,7	31,5	37,6	4,8	1,9
53	Carum carvi	1,1	0,5	32,1	32,6	7,9	0,7
55	Pimpinella siifolia	4,6	3,0	47,5	37,6	0,9	1,0
56	Aegopodium podagraria	15,9	7,0	17,9	26,9	6,8	6,1
58	Sium sisarum	2,9	0,7	41,6	45,6	1,5	2,3
60	Seseli glaucum	0,7	-	26,8	-	1,6	-
61	Oenanthe crocata	1,3	-	42,8	-	0,3	-
62	Aethusa cynapium	1,0	-	38,1	-	1,4	-
64	Foeniculum vulgare	1,0	0,6	50,3	30,9	15,3	1,0
67	Silaus tenuifolius	1,1	0,5	47,6	49,4	18,0	4,6
69	Ligusticum mutellina	2,8	-	42,6	-	19,9	-
Tribus 6 Peucedaneae							
71	Archangelica officinalis	7,4	8,3	17,0	15,2	2,5	6,5
72	Levisticum officinale	6,8	14,7	6,0	46,2	5,2	2,4
78	Dorema ammoniacum	20,9	12,6	43,6	47,9	15,7	2,4
80	Peucedanum ostruthium	25,6	4,3	34,2	36,1	15,1	3,8
82	Pastinaca sativa	1,2	2,2	52,7	48,3	10,8	1,3
83	Heraclium sphondylium	1,2	1,5	50,8	47,7	6,9	4,6
Tribus 7 Laserpitieae							
85	Siler trilobus	2,4	-	52,4	-	22,5	-
86	Laserpitium siler	3,1	1,7	18,2	47,0	6,3	0,8

Tab. 2 Prozenthaler Anteil verschiedener Verbindungen am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion nach 30 bzw. 60 Min. Photosynthese von Blättern verschiedener Umbelliferen in $^{14}\text{CO}_2$. (- = nicht ^{14}C -markiert)

Nr.	Art	Umbell.	Raffin.	Sacch.	Galactinol	Maltose	Min. PS	Datum
Unterfam. Hydrocotyloideae								
Tribus 2 Mulineae								
6	<i>Azorella trifurcata</i>	0,1	-	84,0	0,5	-	60	16. 9.65
Unterfam. Saniculoideae								
Tribus 1 Saniculeae								
13	<i>Astrantia maior</i>	0,2	-	86,3	0,6	0,2	30	10. 8.64
Unterfam. Apioideae								
Tribus 2 Scandiceae								
22	<i>Chaerophyllum aromatic.</i>	2,7	-	56,9	0,5	0,3	60	27. 8.65
23	<i>Anthriscus cerefolium</i>	7,3	-	61,7	1,2	0,8	60	2. 7.69
24	<i>Scandix pecten-veneris</i>	0,2	0,2	90,8	0,5	0,1	60	26. 8.65
26	<i>Myrrhis odorata</i>	12,2	-	69,7	0,2	0,7	60	26. 8.65
Tribus 4 Smyrnieae								
40	<i>Pleurospermum austriac.</i>	6,8	-	72,4	0,8	0,5	60	14. 9.65
Tribus 5 Apieae								
43	<i>Bupleurum rotundifolium</i>	0,1	-	35,1	0,1	0,2	60	26. 8.65
47	<i>Petroselinum crispum</i>	0,5	0,4	46,0	-	12,8	60	17. 4.65
51	<i>Ammi maius</i>	0,1	0,1	84,0	0,2	0,2	60	27. 8.65
53	<i>Carum carvi</i>	1,1	0,2	86,9	2,2	0,1	60	25. 6.70
53	<i>Carum carvi</i> Keimlinge	0,2	0,1	72,7	0,1	1,4	60	11. 9.70
53	<i>Carum carvi</i>	0,5	-	73,2	0,1	0,6	60	30.12.70
53	<i>Carum carvi</i>	0,6	0,3	84,8	1,9	0,1	60	13. 9.71
55	<i>Pimpinella siifolia</i>	4,6	-	69,5	1,6	-	60	8. 9.69
55	<i>Pimpinella peregrina</i>	7,8	-	71,9	1,1	-	30	29. 7.64
56	<i>Aegopodium podagraria</i>	15,1	-	66,8	0,5	0,5	60	27. 8.65
56	<i>Aegopodium podagraria</i>	43,4	-	32,2	1,2	0,5	60	2. 6.71
56	<i>Aegopodium podagraria</i>	30,9	-	46,7	1,2	0,3	60	11. 9.71
56	<i>Ae.p. jung. Blatt</i>	4,2	-	7,2	0,7	1,6	60	2. 6.71
56	<i>Ae.p. jung. Blatt</i>	13,7	-	13,7	0,1	0,3	60	11. 9.71
60	<i>Seseli glaucum</i>	0,3	-	49,9	0,4	0,1	60	27. 8.65
67	<i>Silaus tenuifolius</i>	0,1	-	73,2	0,3	0,2	60	26. 8.65
Tribus 6 Peucedaneae								
76	<i>Ferula narthex</i>	0,2	-	89,2	0,2	0,6	30	27. 9.64
80	<i>Peucedanum ostruthium</i>	0,8	0,1	86,4	0,3	0,3	30	29. 7.64
Tribus 7 Laserpitieae								
86	<i>Laserpitium siler</i>	14,3	0,1	70,6	0,3	0,4	30	29. 7.64
86	<i>Laserpitium hispidum</i>	0,5	-	87,8	0,3	0,3	30	29. 7.64
Tribus 8 Dauceae								
88	<i>Daucus carota</i>	0,8	-	88,8	0,6	0,2	30	10. 8.64

Raffinose konnte in den Blättern quantitativ nicht bestimmt werden. Sie wurde jedoch vereinzelt markiert nachgewiesen, erreichte aber nur einen Anteil von maximal 0,5 %. Galactinol, mit einem Anteil bis zu 2 %, war stets nachzuweisen.

2.1.2. Verbreitung von Umbelliferose im Sproß

Papierchromatographische Untersuchungen von Extrakten aus Sproßen (meist Blütenessproße) zeigten, daß in allen Fällen nur geringe Mengen an Umbelliferose vorlagen. In den wenigen quantitativ untersuchten Fällen wurde dabei stets weniger als 2 µg/g Fgw. gefunden.

2.1.3. Verbreitung von Umbelliferose in Speicherorganen

Umbelliferose wurde von Wickström und Svendsen (1956) in den Wurzeln verschiedener Umbelliferen entdeckt. Hegnauer (1972) stellt aufgrund der bisherigen Untersuchungen fest, daß zwei- und mehrjährige Umbelliferen in ihren Speicherorganen (Wurzeln, Ausläufer, Rhizome) größere Mengen an Stärke und Oligosaccharide enthalten. Die Untersuchung von Speicherorganen von 31 Arten ergab jedoch (Tab. 3), daß Umbelliferose nur in Mengen von 1-5 mg/g Fgw. vorlag. Ausnahmen bildeten die Arten, die auch in den Blättern einen höheren Umbelliferosespiegel aufwiesen, z.B. Nr. 22, 40, 56, 71, 78, 80. Hauptspeichersubstanzen sind Saccharose und wie mikroskopische Untersuchungen zeigten, vor allem Stärke. Umbelliferose ist demnach in der Regel keine wesentliche Komponente der Speicherung. Der Anstieg im Gehalt an Umbelliferose und Saccharose um teilweise mehr als 100 % während des Winters entspricht der bekannten Oligosaccharidanreicherung während dieser Jahreszeit.

Tab. 3 Quantitative Bestimmung von Umbelliferose, Saccharose und Glucose in mg/g Frischgewicht in Speicherorganen (Rhizome, Wurzeln) von Umbelliferen im Oktober 1972 und Januar 1973. Anordnung in Unterfamilien und Triben nach Engler, Syllabus der Pflanzenfamilien. (- = nicht untersucht)

Nr.	Art	Umbellif.		Saccharose		Glucose	
		Okt.	Jan.	Okt.	Jan.	Okt.	Jan.
Unterfam. Hydrocotyloideae							
Tribus 2 Mulineae							
5	Bowlesia incana	2,1	-	12,8	-	0,5	-
6	Azorella trifurcata	3,1	-	19,0	-	0,4	-
Unterfam. Saniculoideae							
Tribus 1 Saniculeae							
12	Hacquetia epipactis	0,7	-	21,2	-	0,2	-
13	Astrantia maior	1,3	1,8	34,2	36,0	1,1	0,2
14	Eryngium giganteum	1,4	-	6,8	-	0,1	-
Unterfam. Apioideae							
Tribus 2 Scandiceae							
22	Chaerophyllum bulbosum	5,3	-	11,8	-	0,6	-
23	Anthriscus cerefolium	1,6	6,6	25,2	26,2	0,6	0,6
Tribus 4 Smyrnieae							
35	Smyrnum olusatrum	0,7	-	26,4	-	5,4	-
37	Conium maculatum	0,8	2,6	24,3	36,0	1,6	0,2
40	Pleurospermum austriacum	8,8	-	5,6	-	0,1	-
Tribus 5 Apieae							
43	Bupleurum fruticosum	0,6	-	6,4	-	0,1	-
44	Trinia kitaibellii	1,6	-	16,4	-	0,1	-
46	Apium graveolens	0,9	1,0	12,5	15,3	0,1	0,3
52	Falcaria vulgaris	2,6	-	24,1	-	0,1	-
53	Carum carvi	3,0	3,1	29,0	31,3	0,2	0,1
55	Pimpinella siifolia	4,7	8,2	8,0	34,0	0,1	0,2
56	Aegopodium podagraria	6,6	10,5	19,1	33,6	4,0	2,1
58	Sium sisarum	1,3	-	37,5	-	0,3	-
60	Seseli glaucum	1,5	4,4	24,5	32,6	0,1	1,0
61	Oenanthe crocata	0,7	0,7	36,2	27,8	0,9	4,5
64	Foeniculum vulgare	0,7	2,2	28,6	36,0	0,4	0,5
67	Silaus tenuifolius	1,5	-	42,4	-	0,1	-
69	Ligusticum mutellina	3,4	5,1	10,9	35,7	0,2	0,5
Tribus 6 Peucedaneae							
71	Archangelica officinalis	9,5	11,1	9,2	35,5	0,2	0,7
72	Levisticum officinale	5,3	10,4	7,9	23,0	0,5	1,3
78	Dorema ammoniacum	8,0	17,5	17,2	25,6	0,1	0,5
80	Peucedanum ostruthium	11,4	11,4	6,8	30,0	0,5	4,5
83	Heracleum sphondylium	1,4	3,1	9,6	35,9	0,2	0,3
Tribus 7 Laserpitieae							
86	Laserpitium siler	3,3	-	17,0	-	0,1	-
Tribus 8 Dauceae							
88	Daucus carota	0,8	1,0	34,3	34,3	4,0	9,6

2.1.4. Verbreitung der Umbelliferose in Früchten

Umbelliferenfrüchte speichern größere Mengen (mehr als 5 mg/g Fgw.) an Umbelliferose (Tab. 4). Wie spätere Untersuchungen zeigten (3.3.), ist Umbelliferose ausschließlich im Endosperm zu finden; die Fruchtwand ist frei von Umbelliferose. Die größeren Schwankungen im Umbelliferosegehalt beruhen auf dem von Art zu Art unterschiedlichen Gewichtsverhältnis von Endosperm zu Fruchtwand. Neben Umbelliferose wurde auch Saccharose in unterschiedlichen Mengen gespeichert; Monosaccharide sind nur wenig vorhanden.

2.2. Verbreitung von Trehalose, Glucosylmannose und Mannitglucosid, sowie Mannan in den Früchten von Umbelliferen

Aus Früchten von *Carum carvi* konnten drei Oligosaccharide isoliert werden, Oligosaccharid A (Trehalose), Oligosaccharid B (Glucosylmannose) und Oligosaccharid C (Mannitglucosid). Diese drei Oligosaccharide verhielten sich bei papierchromatographischer Analyse in Lösungsmittel 3 (Butanol/Pyridin) wie Trehalose und konnten erst durch Boratelektrophorese getrennt werden. Eine Untersuchung von Früchten von 36 Umbelliferen (s. 2.1.) ergab, daß bei eindimensionaler Papierchromatographie in Lösungsmittel 3 stets, wenn auch in unterschiedlicher Menge ein "Fleck" auf Höhe der Trehalose vorhanden war. Von den Früchten, auf deren Chromatogramme dieser "Fleck" besonders intensiv war, wurde ein Boratphorogramm angefertigt. Es waren dies die Früchte der Arten Nr. 14, 24, 33, 37, 53, 55, 64, 86. Dabei konnten jeweils alle drei Oligosaccharide in wechselnden Mengen nachgewiesen werden.

Tab. 4 Quantitative Bestimmung von Umbelliferose, Saccharose und Glucose in mg/g Frischgewicht in Früchten von Umbelliferen. Anordnung in Unterfamilien und Triben nach Engler, Syllabus der Pflanzenfamilien.

Nr.	Art	Umbellif.	Sacchar.	Glucose
Unterfam. Hydrocotyloideae				
Tribus 1 Hydrocotyleae				
1	Hydrocotyle dissecta	0,6	4,4	0,3
Unterfam. Saniculoideae				
Tribus 1 Saniculeae				
13	Astrantia maior	10,2	39,4	0,4
14	Eryngium giganteum	4,4	19,3	0,5
Unterfam. Apioideae				
Tribus 2 Scandiceae				
22	Chaerophyllum bulbosum	6,0	18,2	0,8
23	Anthriscus cerefolium	11,6	4,2	0,2
24	Scandix pecten-veneris	6,7	1,1	0,3
26	Myrrhis odorata	9,7	1,4	0,2
31	Orlaya grandiflora	8,8	5,7	2,6
Tribus 3 Coriandreae				
33	Coriandrum sativum	11,1	6,5	0,8
34	Bifora radians	8,3	3,5	0,3
Tribus 4 Smyrnieae				
35	Smyrniolum perfoliatum	4,8	15,5	0,3
37	Conium maculatum	2,8	13,2	0,3
40	Pleurospermum austriacum	24,8	30,8	0,5
Tribus 5 Apieae				
43	Bupleurum ranunculoides	21,9	2,2	0,5
46	Apium repens	7,4	5,2	0,4
47	Petroselinum crispum	8,3	7,2	0,5
48	Cicuta virosa	10,2	8,2	0,3
50	Cryptotaenia japonica	10,7	20,2	0,5
53	Carum carvi	5,6	10,3	0,4
55	Pimpinella saxifraga	10,7	10,4	1,2
56	Aegopodium podagraria	1,1	6,3	0,4
58	Sium sisarum	12,1	24,3	0,4
60	Seseli gracile	8,3	11,9	0,7
61	Oenanthe aquatica	9,8	14,9	0,6
62	Aethusa cynapium	2,1	5,5	0,4
64	Foeniculum vulgare	6,5	6,7	1,8
65	Anethum graveolens	10,5	2,1	0,4
69	Ligusticum mutellina	12,1	20,1	1,1
Tribus 6 Peucedaneae				
71	Archangelica officinalis	27,4	26,1	0,6
72	Levisticum officinale	9,4	10,5	0,5
78	Dorema ammoniacum	15,5	22,6	1,0
80	Peucedanum ostruthium	9,8	8,2	0,3
82	Pastinaca sativa	8,3	10,7	0,3
83	Heracleum sphondylium	20,5	11,0	0,7
Tribus 7 Laserpitieae				
86	Laserpitium hispidum	9,9	6,3	0,8
Tribus 8 Dauceae				
88	Daucus carota	3,5	8,3	0,8

Gleichzeitig wurde das Reservepolysaccharid des Endosperms dieser Früchte untersucht. Die Analyse erbrachte das gleiche Ergebnis wie bei den Früchten von *Carum carvi*. Ihr Reservepolysaccharid konnte, wie in 1.2. dargestellt, als Mannan charakterisiert werden. Es kann daher angenommen werden, daß sowohl die drei Oligosaccharide als auch das Reservepolysaccharid Mannan bei Umbelliferenfrüchten allgemein verbreitet sind.

2.3. Vorkommen von Umbelliferose und Mannan bei den Umbellifloren

Bei Takhtajan und anderen Autoren bilden die Apiaceae (Umbelliferae) und Araliaceae die Ordnung der Araliales. Zusammen mit der Ordnung der Cornales, die die Familien der Cornaceae, Garryaceae, Davidiaceae, Nyssaceae und Alangiaceae umfaßt, bildet sie die Überordnung der Umbelliflorae. Bisherige phytochemische Untersuchungen zeigten enge Beziehungen zwischen Apiaceae und Araliaceae auf (Hegnauer 1964, Hegnauer 1972; Tab. 5). Andererseits lieferten die chemische Merkmale keinerlei Hinweise auf Beziehungen zu den Cornales. Da die Kohlenhydrate dieser Familien nur wenig untersucht wurden, blieben zwei, in systematischer Hinsicht, interessante Fragen ungeklärt:

1. Kommt Umbelliferose, das charakteristische Oligosaccharid der Apiaceae, auch in den übrigen Familien der Umbellifloren vor?
2. Welche Zusammensetzung besitzt die Reservezellulose der Samen in diesen Familien?

Das Pflanzenmaterial (Tab. 6) wurde, da erfahrungsgemäß der Gehalt an Oligosacchariden jahreszeitlich und vom Entwicklungszustand der Pflanze abhängig ist,

Tab. 5 Charakteristische chemische Verbindungen der Umbelliferen und ihre Verbreitung in anderen Familien (aus Hegnauer, 1972).

Typ der chemischen Verbindung u. Häufigkeit des Vorkommens bei Umbelliferen	Vorkommen in anderen Familien
(1) Ätherische Öle und Harze in schizogenen Höhlungen oder Kanälen: ubiquitär	Araliaceae, Compositae, Pitto- sporaceae, Burseraceae, Simarou- baceae, Rutaceae (Lysigen) u.a. Familien
(2) Furanocoumarine: häufig	Rutaceae, Pittosporaceae, Leguminosae, Moraceae
(3) Pyranocoumarine: häufig	Rutaceae
(4) Andere Isopentenyl-sub- stituierte Coumarine: häufig	Rutaceae, Meliaceae (Ptaeroxylon, Cedrelopsis), Compositae (Aster)
(5) Polyacetylenische Verbind. häufig; besonders Falcarinon- Typ C-17 Verbindungen	Araliaceae (bes. Falcarinon-Typ), Compositae (Galinsoga) Pittosporaceae, Campanulaceae
(6) Oleanen- u. Ursen-Typ von triterpenischen Sapogeninen: mehrere Genera	Araliaceae, Pittosporaceae, Com- positae, Berberidaceae, Ranunculaceae und viele andere Familien
(7) Samen-Fette mit Petroselin- säure: ubiquitär	Araliaceae, Simaroubaceae (Picrasma)
(8) Tannine: fehlend	Araliaceae, Pittosporaceae, Compositae u. viele andere Familien
(9) 2-Methylchromone: selten (Ammi, Angelica, Peucedanum)	Meliaceae (Ptaeroxylon), Ranunculaceae, Myrtaceae; 2,2- Dimethylchromone in Compositae und Rutaceae
(10) Guaianolide: selten	Compositae
(11) Germacranolide: selten	Compositae, Magnoliaceae (Michelia, Liriodendron)
(12) Ester von Isoeugenolepoxid: selten	Compositen (Coreopsis)

Tab. 6 Zusammenstellung der untersuchten Araliaceae, Cornaceae, Alangiaceae, Garryaceae, Rutaceae, Simaroubaceae und Compositae. Abkürzungen für die untersuchten Pflanzenteile: Sproß, Blatt, Wurzel, Frucht.

Araliaceae:

Acanthopanax divaricatus Seem. (F), *A. henryi* (Oliv.) Harms (B,F), *A. lasiogyne* Harms (F), *A. pentaphyllum* Marsh (B,S,W,F), *A. senticosus* Harms (B,S), *A. sessiliflorus* (Rupr. et Maxim.) Seem. (B,F), *A. sieboldianus* Hak. (F), *A. simonii* Schweid. (F), *A. wardii* W.W. Lm. (F), *Aralia elata* Seem. (B,S,F), *A. filicifolia* C. Moore ex Fourn. (B), *A. racemosa* L. (B,F), *Cussonia spicata* Thunb. (B), *Fatsia japonica* (Thunb.) Decne et Planch. (F), *Hedera helix* L. -Jugendform- (B,S), *H. helix* L. -Altform- (B,S,F), *Meryta Dehamii* Seem. (B), *Oplopanax horridus* (Sm.) Hiq. (F), *Oreopanax capitatus* Decne et Planch. (B), *Panax spec.* (B), *Polyscias balfouriana* L.H. Bailey (B), *P. filicifolia* Thunb. (B), *Schefflera venulosa* Harms (B), *Trevesia palmata* Vis. (S,B,F).

Cornaceae:

Aucuba japonica Thunb. (B,F), *Cornus alba* L. (S,F), *C. Drummondii* C.A. Mey (F), *C. hemsleyi* Schneid. & Wanger. (F), *C. macrophylla* Wall. (F), *C. mas* L. (B,S,F), *C. pumila* Koehne (F), *C. rugosa* Lam. (F), *C. sanguinea* L. (B,F), *C. stolonifera* Michx. (S), *C. walteri* Wangerin (F), *Corokia virgata* Turill. (B,S), *Curtisia spec.* (B), *Griselinia litoralis* Raoul. (B).

Alangiaceae (nur B):

Alangium javanicum Wangerin, *A. chinense* Rehder, *A. begoniaefolia* Baill.

Garryaceae (nur B):

Garrya elliptica Dougl., *G. Fremmortii* Torr., *G. laurifolia* Benth.

Rutaceae (nur B):

Dictamnus caucasicus Fisch et Gressh., *D. turkestanicus* Vred., *Evodia rutaecarpa* Hook., *E. Daniellii* Hemsl., *Phellodendron chinense* C.K. Schneider, *Ph. japonicum* Max., *Poncirus trifoliatus* L. Raffin., *Ptelea angustifolia* Benth., *Ruta graveolens* L.

Simaroubaceae:

Ailanthus altissima Mill. (B,S), *Picrasma quassioides* Bennett. (B), *Quassia amara* Linn. (B).

Compositae (nur B):

Achillea filipendulina Lam., *Aster novi belgii* L., *Chrysanthemum balsamita* L., *Cirsium canum* Bieb., *Coreopsis Tripteris* L., *Galinsoga parviflora* Cav., *Helenium autumnale* J.F. Gmel., *Helianthus strumosus* Linn. Sp., *Heliopsis helianthoides* Sweet., *Inula ensifolia* L., *Parthenium integrifolium* Linn., *Rudbeckia Newmannii* Loid., *Silphium integrifolium* Michx., *Solidago aspera* Ait. Hort., *Tanacetum vulgare* L., *Verbesina virgata* Cav.

Abb. 4a

Papierchromatogramm
vom Zuckerextrakt aus
dem Blatt von
Acanthopanax penta-
phyllum (Araliaceae).
Sichtbarmachung der
Zucker mit Silbernitrat
nach Trevelyan, 1950



Abb. 4b

Wie Abb. 4a, aber vom
Zuckerextrakt aus dem
Endosperm von
Trevesia palmata
(Araliaceae)



Abb. 4c

Wie Abb. 4a, aber vom
Zuckerextrakt aus dem
Blatt von *Cussonia*
spicata (Araliaceae)



zweimal (Februar und August 1972) analysiert. Von den Früchten wurden Fruchtwand und Endosperm, soweit möglich, getrennt untersucht. Mit Ausnahme der Alangiaceae und Garryaceae (Herbarmaterial) handelte es sich um Frischmaterial; von den Davidiaceae und Nyssaceae lag kein Material vor.

2.3.1. Verbreitung der Umbelliferose

Araliaceae, Cornaceae, Garryaceae und Alangiaceae erwiesen sich in ihren vegetativen Pflanzenteilen als ausgesprochen arm an Oligosacchariden. Dominierender Zucker war immer Saccharose.

Araliaceae: Umbelliferose konnte in allen Pflanzenteilen von *Acanthopanax pentaphyllum* (Abb. 4a) und *Trevesia palmata* (Abb. 4b), sowie in den Blättern verschiedener anderer Arten von *Acanthopanax* nachgewiesen werden. Bei sämtlichen anderen untersuchten Gattungen konnte in den verschiedenen vegetativen Pflanzenteilen Umbelliferose nicht festgestellt werden, dafür jedoch unterschiedliche Mengen an Raffinose (Abb. 4c). Im Endosperm aller untersuchten Arten wurde Umbelliferose, jedoch keine Raffinose gefunden.

Cornaceae: Umbelliferose wurde in keinem Fall nachgewiesen, dagegen jedoch stets Raffinose. Auch im Endosperm lag nur Raffinose vor.

Alangiaceae und Garryaceae: Das untersuchte Herbarmaterial war frei von Raffinose und Umbelliferose.

Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ mit Blättern wurde bisher nur bei wenigen Arten durchgeführt; dabei konnte markierte

Raffinose bzw. Umbelliferose nachgewiesen werden:

Araliaceae:

Aralia chinensis, 30 min. PS, 9.6.63 Raffinose
Hedera helix, 60 min. PS, 31.5.65 Raffinose
Trevesia palmata, 60 min. PS, 2.4.73 Umbelliferose

Cornaceae:

Cornus pubescens, 30 min. PS, 8.5.63 Raffinose

2.3.2. Verbreitung von Mannan

Sämtliche Umbellifloren haben Samen mit reichlichem Endosperm. Bei den Apiaceae sind die Zellen des Endosperms durch Reservepolysaccharid verdickt. Dieses Polysaccharid konnte als Mannan charakterisiert werden (1.2.). Eine vergleichende mikroskopische Untersuchung von Endosperm aus Araliaceen- und Cornaceenfrüchten ergab, daß das Araliaceenendosperm schwach verdickte Zellwände aufweist, während die Zellwände des Cornaceenendosperms unverdickt sind. Die chemische Analyse ergab:

Araliaceae: Als Bestandteile des Hydrolysats des Endosperms konnten immer neben viel Mannose wenig Galactose und Arabinose nachgewiesen werden.

Cornaceae: Als Bestandteile des Hydrolysats des Endosperms konnten Arabinose und Galactose, jedoch nur Spuren von Mannose nachgewiesen werden. Das steinharte Endokarp der Früchte erwies sich als Xylan.

Früchte von den anderen Familien lagen nicht vor. Nach Engler, Syllabus der Pflanzenfamilien, ist das Endosperm der Alangiaceae, Garryaceae, Nyssaceae und Davidiaceae fleischig. Es ist deshalb anzunehmen, daß

das fleischige Endosperm dieser Familien ähnlich wie das der Cornaceae nicht mannanhaltig ist.

2.4. Diskussion

Kohlenhydrate wurden bisher bei chemotaxonomischen Untersuchungen wenig berücksichtigt (Harborne 1968). Der Grund hierfür liegt darin, daß viele Kohlenhydrate in Pflanzen weit verbreitet sind und ihr Auftreten (oder Fehlen) vielfach vom Entwicklungszustand der Pflanze und von der Jahreszeit abhängig ist. Crowden et al. (1969) zeigten in ihrer Chemotaxonomie der Umbelliferen, daß diese Pflanzen chemisch weitgehend homogen sind und folgerten daraus, daß Umbelliferose sehr wahrscheinlich universell in der Familie vorkommt. In Übereinstimmung damit stehen die eigenen Ergebnisse. So konnte in allen untersuchten Umbelliferen Umbelliferose nachgewiesen werden und an Hand von Trehalose, Glucosylmannose, Mannitglucosid und Mannan in ihren Früchten die homogene Verbreitung von Oligosacchariden bzw. Polysaccharid in der Familie gezeigt werden. Umbelliferose wurde bisher nur bei Umbelliferen gefunden. Aber schon 1964 stellte Hegnauer die Frage, ob die mit den Umbelliferen phytochemisch in enger Beziehung stehenden Araliaceae (Tab. 5) nicht auch Umbelliferose enthalten. Sie konnte nun bei *Acanthopanax* und *Trevesia* in vegetativen Pflanzenteilen und bei allen anderen untersuchten Arten der Araliaceen erstmals auch im Endosperm nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte das Reservepolysaccharid, wie bei den Umbelliferen, als Mannan charakterisiert werden.

Während also die phytochemischen Merkmale, nämlich Umbelliferose und Mannan, die enge Verwandtschaft von Umbelliferen und Araliaceae bestätigen, konnte keine Beziehung zu den Cornales hergestellt werden. Diese enthalten nach bisherigen Untersuchungen nur Raffinose. Damit würde das System nach Cronquist (1968) unterstützt werden, der in die Ordnung der Umbellales nur die Familien der Umbelliferae und Araliaceae einbezieht.

Wie die Tab. 5 zeigt, weisen neben den Araliaceae vor allem die Rutales und Compositen phytochemische Gemeinsamkeiten mit den Umbelliferen auf. Hegnauer (1972) machte deshalb zwei Vorschläge zur natürlichen Verwandtschaft der Umbelliferen, die im Einklang mit Cronquists System stehen:

1. Die Umbellales stellen keine Klimaxgruppe dar; sie können die Basis darstellen, aus der sich die Asterales entwickelt haben.
2. Die Umbellales könnten sich aus den Rutales entwickelt haben.

Es wurden deshalb einige Arten (Tab. 6) aus den Familien der Rutaceae, Simaroubaceae und Compositae auf ihre Oligosaccharide hin untersucht, von denen, wie in Tab. 5 angegeben, phytochemische Gemeinsamkeiten mit den Umbelliferen nachgewiesen sind. Bei den untersuchten Arten der Rutaceae wurde Raffinose und Stachyose gefunden, bei denen der Simaroubaceae Raffinose. Somit weisen die Rutales mit den Umbellales Galactose-Oligosaccharide als phytochemische Gemeinsamkeit auf. Beziehungen zu den Asterales (Compositen) herzustellen, schien zunächst nicht möglich, da diese Ordnung nur Fructose-Oligosaccharide (Kestose, Isokestose) und Fructose-Polysaccharide (Inulin-

reihe) enthält. Nachdem Hiller (1972) erstmals bei Eryngiumarten (Unterfam. Saniculoideae) Isokestose nachweisen konnte und wir nun bei Eryngium giganteum und E. campestre neben Isokestose auch Umbelliferose fanden, ist es durchaus möglich, daß Isokestose ein weiteres phytochemisches Merkmal darstellt, das für eine natürliche Verwandtschaft der Umbellales mit den Asterales entspricht.

3. Physiologie der Umbelliferose

3.1. Jahreszeitlicher Gang verschiedener Kohlenhydrate in Aegopodium podagraria und Carum carvi

Untersucht wurde der Jahresgang von Umbelliferose, Saccharose, Glucose und Fructose. Dafür wurden zwei verschiedene Umbelliferen ausgewählt: Aegopodium podagraria als Vertreter von mehrjährigen Umbelliferen mit hohem Umbelliferosegehalt (mehr als 5 mg/g Fgw.) und Carum carvi als Vertreter von zweijährigen Umbelliferen mit niedrigen Umbelliferosegehalt (weniger als 2 mg/g Fgw.).

3.1.1. Jahreszeitlicher Gang der Kohlenhydrate in Blättern von Aegopodium podagraria (Abb. 5)

Bei Aegopodium podagraria starben die meisten Blätter während der Frostperiode ab. Die wenigen Blätter, die die Wintermonate überdauerten, zeigten einen kontinuierlichen Anstieg des Saccharose- und Umbelliferosegehaltes, der im Januar sein Maximum erreichte. Die neuen Blätter erschienen Anfang bis Mitte März mit noch geringem Kohlenhydratgehalt. Die voll expandierten Blätter akkumulierten Ende März Saccharose und Umbelliferose; der Gehalt beider Zucker sank rapid ab, als die Blütenbildung Mitte Mai

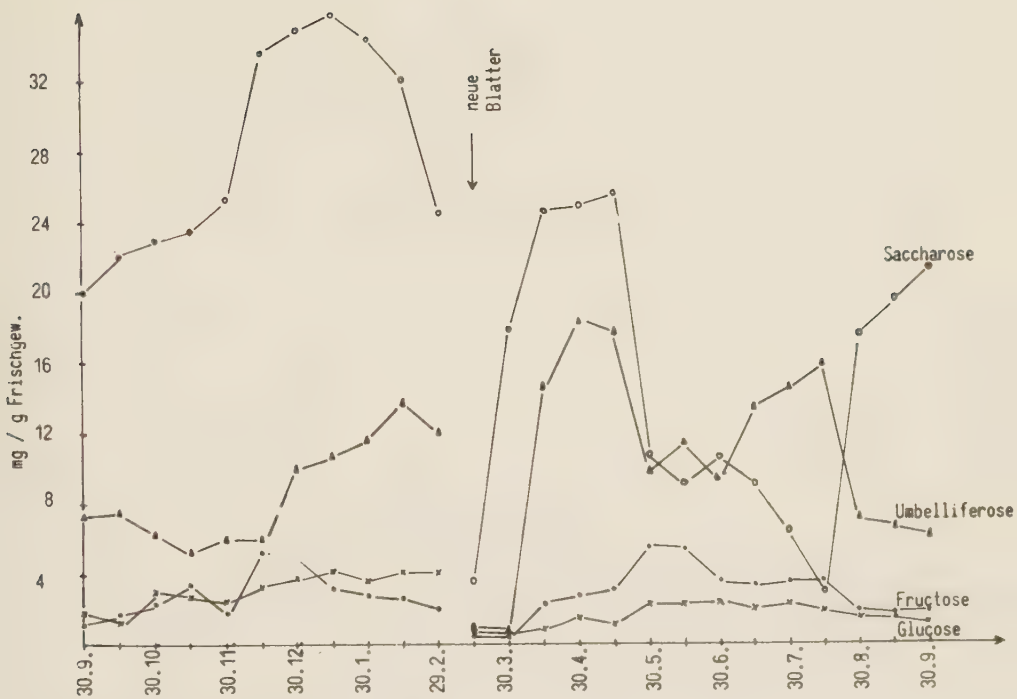


Abb. 5 Jahreszeitlicher Gang verschiedener Zucker im Blatt von *Aegopodium podagraria*, 1971/1972

einsetzte und blieb dann während der Blüte und Frucht-reife konstant. Nach dem Abwerfen der Früchte im Juli wurde auf Kosten der Saccharose verstärkt Umbelliferose gebildet, die dann offensichtlich Ende August in das weitverzweigte Ausläufersystem abgeleitet wurde.

3.1.2. Jahreszeitlicher Gang der Kohlenhydrate in Ausläufern von *Aegopodium podagraria* (Abb. 6)

Der Kohlenhydratgehalt der Ausläufer von *Aegopodium podagraria* verhielt sich ähnlich wie der der Blätter.

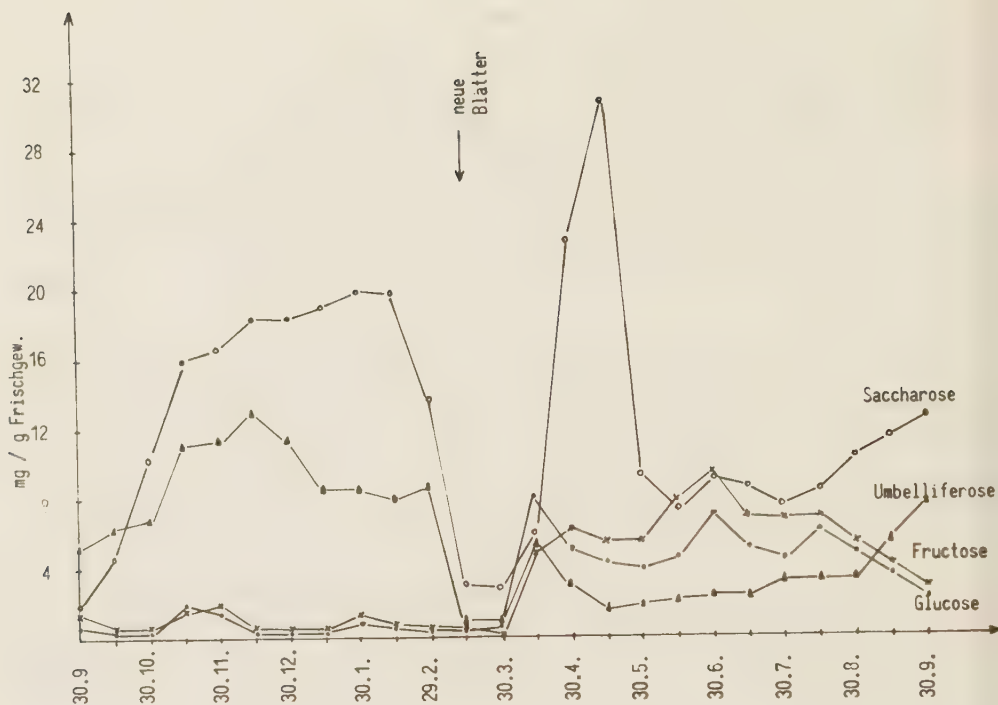


Abb. 6 Jahreszeitlicher Gang verschiedener Zucker in den Ausläufern von *Aegopodium podagraria*, 1971/1972

Im Winter wurden Umbelliferose und Saccharose akkumuliert; mit Beginn der Blattbildung wurden beide Zucker verbraucht. Der kurze Anstieg des Saccharosegehaltes Anfang Mai ist schwer zuzuordnen, da sich zwei Vorgänge überlagerten, nämlich Blütenbildung und zugleich beginnendes Ausläuferwachstum. Die Zeit des Ausläuferwachstums von Mitte April bis Ende August war durch den relativ hohen Gehalt an freier Glucose und Fructose charakterisiert. Im Laufe des September/Oktober setzte die winterliche Oligosaccharidakkumulation ein.



Abb. 7 Jahreszeitlicher Gang verschiedener Zucker im Blatt von *Carum carvi*, 1971/1972

3.1.3. Jahreszeitlicher Gang der Kohlenhydrate in Blättern von *Carum carvi* (Abb. 7)

Der Jahresgang der Kohlenhydrate in den Blättern von *Carum carvi* ist im Zusammenhang mit dem Lebenszyklus der Pflanze zu sehen. Die Früchte von *Carum carvi* wurden Anfang Juli reif und keimten nach dem Abfall gleich aus; bis zum Herbst wurde eine Rübe mit Rosettenblättern gebildet. Im Laufe des Winters starben die Rosettenblätter ab. Die neuen Blätter zeigten schon bei ihrer Entfaltung einen hohen Saccharosegehalt, der sich bis zum Absterben der Pflanze im Juli nach der Fruchtreife wenig änderte.

Der Gehalt an Saccharose in den Blättern (mehr als 20 mg/g Fgw.) und an Umbelliferose (weniger als 2 mg/g Fgw.) blieb weitgehend konstant, unabhängig von Jahreszeit und Alter der Pflanze.

3.2. Ableitung von Umbelliferose und Saccharose vom Blatt in die Wurzel bei Aegopodium podagraria

Haupttransportform ist bei den meisten Pflanzen die Saccharose. Bei *Lamium maculatum* konnte von Senger (1967) gezeigt werden, daß nicht Saccharose, sondern bevorzugt Raffinose und Stachyose abgeleitet werden. Es war daher von Interesse, ob die Umbelliferose ebenfalls bevorzugt abgeleitet wird. Die Versuchsdurchführung erfolgte ähnlich wie von Senger (1967) beschrieben. Nach 2 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und anschließend 6 Std. Verdunklung eines an der Pflanze belassenen Blattes wurden die abgeleiteten radioaktiv markierten Verbindungen analysiert. Es wurden dabei getrennt mit 70 % Alkohol extrahiert: Blatt, Blattstiel, 4 Sproßabschnitte (jeweils 5 cm) und das Rhizom (mit Haarwurzeln).

3.2.1. Aktivitätsverteilung auf der Transportstrecke

Die Aktivitätsverteilung auf der Transportstrecke (Tab. 7) zeigte, daß der von Senger (1967) ermittelte Zeitraum für einen Ableitungsversuch auch für *Aegopodium podagraria* günstig war, da die abgeleitete Aktivität bereits das Rhizom erreicht hatte, aber noch nicht akkumuliert wurde.

3.2.2. Verteilung der Aktivität auf Saccharose und Umbelliferose

Die Abb. 8a und Tab. 8 zeigen, daß Saccharose und Umbelliferose bei Versuchsende im Blatt etwa den gleichen

Tab. 7 Aktivitätsverteilung auf der Transportstrecke nach 2 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und 6 Std. Nachverdunklung bei *Aegopodium podagraria* am 26.5.72. Angabe der Aktivitätsverteilung in % der Gesamtaktivität aller löslichen Fraktionen aller Pflanzenteile.

Pflanzenteil	mg Frischgewicht	%-Anteil
Blatt	72,8	58,3
Blattstiel (3 cm)	51,8	7,4
Sproßabschnitt 1 (5 cm)	149,6	13,4
" 2 (5 cm)	284,0	12,2
" 3 (5 cm)	616,7	6,1
" 4 (5 cm)	463,8	2,1
Rhizom	698,8	0,5

Tab. 8 Prozentualer Anteil von Umbelliferose, Saccharose und restlichen Verbindungen am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion des Blattes, des Blattstieles, der aufeinanderfolgenden Sproßabschnitte (1-4) und des Rhizoms nach 2 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und nachfolgender 6 Std. Verdunklung bei *Aegopodium podagraria* am 26.5.72

Pflanzenteil	Prozentualer Anteil		
	Umbelliferose	Saccharose	Rest
Blatt	32,9	31,7	35,4
Blattstiel	15,2	63,6	21,2
Sproßabschnitt 1	11,7	77,4	10,9
" 2	5,2	85,2	9,6
" 3	2,4	91,0	6,6
" 4	2,2	94,4	3,4
Rhizom	2,9	97,1	-

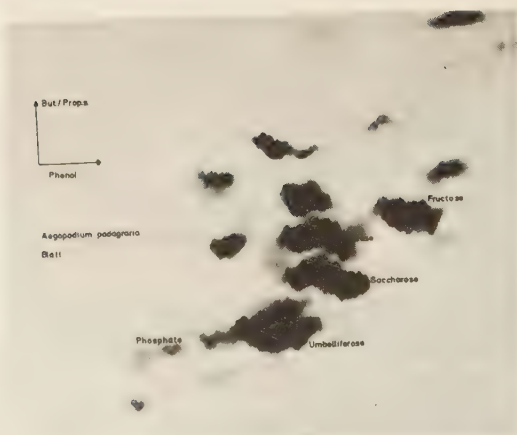


Abb. 8a

Radioautogramm des
Blattextraktes von
Aegopodium podagraria
nach 2 Std. Photosynthese
in $^{14}\text{CO}_2$ und anschlies-
sender 6-stündiger
Verdunklung

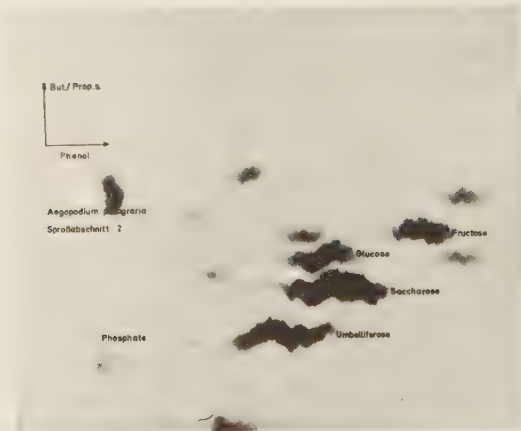


Abb. 8b

Bedingungen wie Abb. 8a,
aber Radioautogramm des
Sproßabschnittes 2

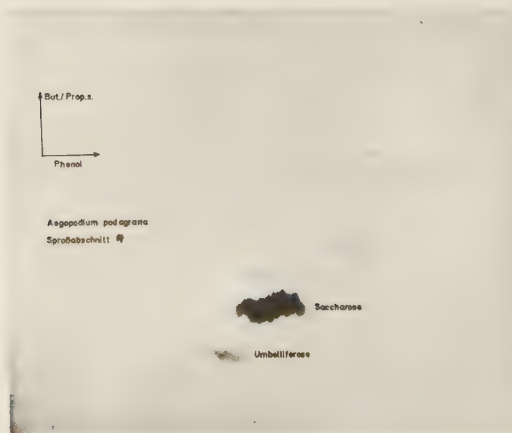


Abb. 8c

Bedingungen wie Abb. 8a,
aber Radioautogramm des
Sproßabschnittes 4

prozentualen Anteil hatten. Die Ableitung beider Oligosaccharide erfolgte jedoch sehr unterschiedlich. Nach längerer Transportstrecke stellte die Saccharose den Hauptanteil der löslichen Kohlenhydrate dar. Dagegen nahm der prozentuale Anteil der Umbelliferose so sehr ab, daß sich die Frage stellte, ob Umbelliferose überhaupt abgeleitet wurde oder nicht aus der abgeleiteten Saccharose de novo gebildet wurde. Die Klärung dieser Frage ergab sich durch folgende Untersuchungen:

1. Die Untersuchung der intramolekularen Verteilung des ^{14}C in Umbelliferose aus den einzelnen Abschnitten zeigte, daß vom Blatt bis zur Wurzel die einzelnen Zuckerkomponenten der Umbelliferose gleich markiert waren. Im Falle einer de novo Synthese im Sproß aus Saccharose wäre eine geringere Markierung des Galactoseanteils zu erwarten gewesen.
2. Wenn im Sproß relativ rasch Umbelliferose aus Saccharose neu synthetisiert wird, müßte nach 2 Std. Photosynthese eines entblätternen Sproßstückes in $^{14}\text{CO}_2$ neben Saccharose auch Umbelliferose als markierte Verbindung zu finden sein. Es konnte jedoch nur markierte Saccharose gefunden werden.

Diese beiden Ergebnisse zeigen, daß Umbelliferose tatsächlich abgeleitet wird, wenn auch im weitaus geringeren Maße als Saccharose.

3.2.3. Quantitative Aspekte bei der Ableitung von Umbelliferose und Saccharose

Um eine annähernde Vorstellung von der in quantitativer Hinsicht unterschiedlichen Ableitung von Umbelliferose und Saccharose zu bekommen, wurde unter der sicher nur

beschränkt richtigen Annahme, daß die spezifische Aktivität der Umbelliferose bzw. Saccharose, die das Blatt verläßt, während der Ableitungszeit konstant ist, eine Hochrechnung erstellt (Tab. 9). Mit Hilfe der Chromatogramme der einzelnen Abschnitte, die jeweils mit Extrakt aus 10 mg Frischgewicht beladen waren, konnte die Aktivitätsmenge an Umbelliferose bzw. Saccharose ermittelt werden, die das Blatt während der 6 Std. Ableitungszeit verlassen hatte. Aufgrund der Bestimmung der spezifischen Aktivität beider Zucker im Blatt war es möglich, die abgeleiteten Mengen an Umbelliferose und Saccharose zu errechnen. Als abgeleitete Saccharose wurde die auf den Chromatogrammen der Sproßabschnitte gefundene Saccharose und die restlichen markierten Verbindungen angesehen. Unter restlichen markierten Verbindungen sind die Verbindungen (Monosaccharide, Zuckerphosphate, Zuckernukleotide, Amino- und Carbonsäuren) mit Ausnahme der Umbelliferose zu verstehen, die vermutlich nicht abgeleitet werden (Senser, 1967), sondern aus abgeleiteter markierter Saccharose, die aus dem Phloem in das Sproßparenchym ausgetreten ist entstehen. Aus der Berechnung (Tab. 9) geht hervor, daß aus dem Blatt mit einem Frischgewicht von 72,8 mg in 6 Std. 0,11 mg Umbelliferose und 1,14 mg Saccharose abgeleitet wurde; damit wurde Saccharose etwa zehnmal besser abgeleitet als Umbelliferose. Wenn man die Werte für Saccharose allein (1) vergleicht mit denen für Saccharose und ihren Umwandlungsprodukten (2) im Sproß, so kann man ersehen, daß nur ein ganz geringer Anteil (0,07 mg = 6 %) der abgeleiteten Saccharose metabolisiert worden ist.

Tab. 9 Berechnung der in 6 Std. abgeleiteten Menge an Saccharose und Umbelliferose aus dem Blatt von *Aegopodium podagraria*. Gemessene Werte sind mit ⁺ gekennzeichnet.
 Saccharose (1) = nur abgeleitete Saccharose
 Saccharose (2) = abgeleitete Saccharose und im Sproß aus Saccharose entstandene Verbindungen.

Pflanzenteil	cpm	%	µMol	mg
<u>Umbelliferose</u>				
in der ges. Pflanze	7067694	100	1,36	0,68
davon im Blatt	5956605 ⁺	84,3	1,14 ⁺	0,57 ⁺
davon abgeleitet	1111089 ⁺	15,7	0,22	0,11
<u>Saccharose (1)</u>				
in der ges. Pflanze	17503460	100	4,66	1,59
davon im Blatt	5736640 ⁺	32,8	1,52 ⁺	0,52 ⁺
davon abgeleitet	11766820 ⁺	67,2	3,14	1,07
<u>Saccharose (2)</u>				
in der ges. Pflanze	18200660	100	4,85	1,66
davon im Blatt	5736640 ⁺	31,5	1,52 ⁺	0,52 ⁺
davon abgeleitet	12464020 ⁺	68,5	3,33	1,14

3.2.4. Veränderungen im Kohlenhydratgehalt von Aegopodium podagraria während verschieden langer Ableitungszeiten

In einem Parallelversuch wurden bei drei Pflanzen von Aegopodium podagraria nach verschieden langer Ableitungszeit Saccharose, Umbelliferose, Glucose und Fructose quantitativ bestimmt. Bei sonst gleicher Versuchsdurchführung wie in 3.2. wurde nach 2 Std. Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$ eine Pflanze sofort, die beiden anderen nach anschließender 6-stündiger bzw. 24-stündiger Verdunklung analysiert.

Die Ergebnisse dieses Versuchs zeigen die Abbildungen 9a,b,c. Saccharose lag nach 2 Std. Photosynthese in einer Menge von 20 mg/g Fgw. im Blatt vor, nach 6 Std. waren nur noch 5 mg, nach 24 Std. nur noch 1 mg vorhanden. Umbelliferose dagegen nahm von 8,7 mg/g Fgw. in 24 Std. nur auf 6,3 mg ab.

Im vorhergehenden Versuch wurde festgestellt, daß aus einem Blatt (72 mg Fgw.) in 6 Std. 0,11 mg Umbelliferose und 1,14 mg Saccharose abgeleitet wurden. Mit Hilfe dieser Werte wurde nun die Menge an Umbelliferose bzw. Saccharose berechnet, die nach 6 bzw. 24 Ableitung noch im Blatt vorhanden ist (Tab. 10). Vergleicht man nun die berechnete Menge an Umbelliferose und Saccharose mit der, die tatsächlich gemessen wurde, so kann man folgendes feststellen: Für Umbelliferose ergibt sich nach 6 Std. Ableitung eine gute Übereinstimmung zwischen beiden Werten, nach 24 Std. jedoch eine größere Abweichung, die darauf zurückzuführen ist, daß Umbelliferose unabhängig von der Photosynthese auch im Dunkeln synthetisiert wird. Für Saccharose ergibt sich nach 6 Std. Ableitung eine weitgehende Übereinstimmung. Wahrscheinlich interferiert hier aber bereits die Nachlieferung von Saccharose aus dem

Tab. 10 Ableitung von Umbelliferose und Saccharose aus dem Blatt von *Aegopodium podagraria*

Ableitungszeit	mg Blatt- gewicht	Zucker mg/g Fgw.	Gemessener Absolutgehalt Zucker in mg (gleiches Blatt- gewicht)	Berechneter Absolutgeh. in mg
<u>Umbelliferose:</u> Ableitung 0,1 mg / 70,2 mg Blatt / 6 Std.				
Blatt, 2 Std. PS	70,2	8,7	0,610	---
Blatt, 2 Std. PS + 6 Std. Ableitung	72,8	7,9	0,554	0,510
Blatt, 2 Std. PS + 24 Std. Ableitung	75,4	6,3	0,441	0,210
<u>Saccharose:</u> Ableitung 1,1 mg / 70,2 mg Blatt / 6 Std.				
Blatt, 2 Std. PS	70,2	20,6	1,446	---
Blatt, 2 Std. PS + 6 Std. Ableitung	72,8	5,8	0,407	0,346
Blatt, 2 Std. PS + 24 Std. Ableitung	75,4	1,0	0,070	- 2,954

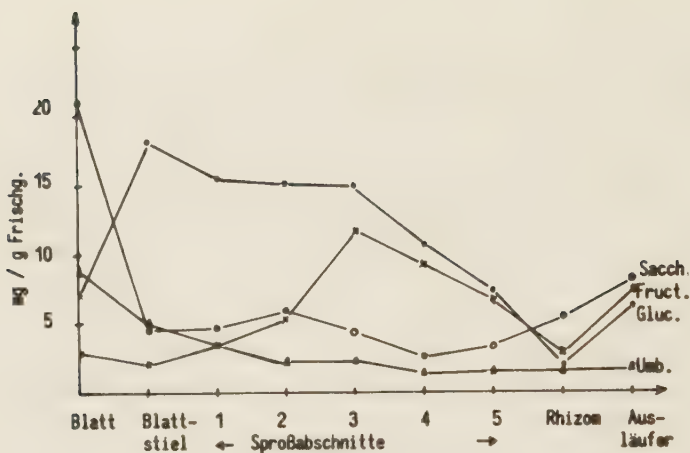


Abb. 9a Gehalt verschiedener Kohlenhydrate im Blatt, dem Sproß (1-5), dem Rhizom und im Ausläufer von *Aegopodium podagraria* nach 2 Std. Photosynthese

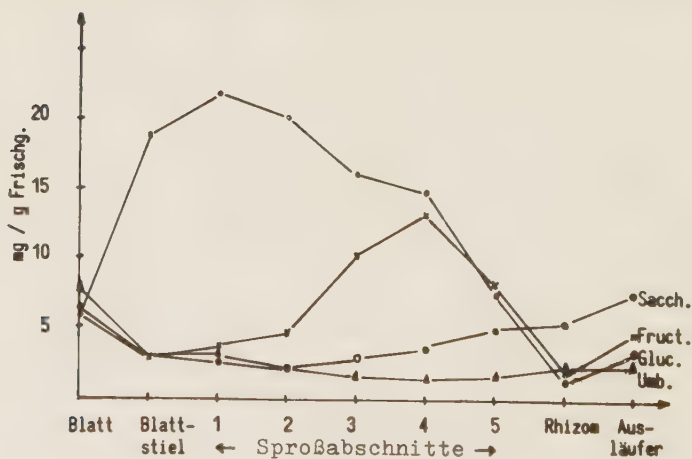


Abb. 9b Wie Abb. 9a, jedoch nach anschließender 6-stündiger Verdunklung

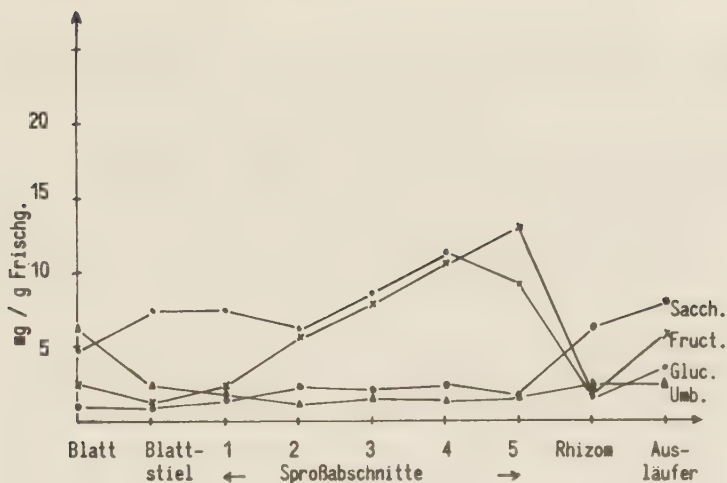


Abb. 9c Wie Abb. 9a, jedoch nach anschließender 24-stündiger Verdunklung

Abbau der Assimilationsstärke. Die Ableitungsstrecke (Blattstiel und Sproß) zeigte vor und nach der Ableitung in etwa gleiche Mengen an Saccharose und Umbelliferose. Wenn man miteinbezieht, daß die in 6 Std. abgeleitete Saccharose nur zu 6 % im Sproß metabolisiert wurde, so kann angenommen werden, daß neben der im Phloem abgeleiteten Saccharose und Umbelliferose ein konstanter, wenig austauschender Pool an beiden Zuckern im nicht-leitenden Sproßgewebe vorliegt. Diese Annahme muß auch für Glucose und Fructose gemacht werden. Beide Zucker weisen in den einzelnen Sproßabschnitten einen hohen Gehalt auf; sie wurden aber weder bei der Ableitung von ^{14}C -Saccharose und ^{14}C -Umbelliferose noch nach 2 Std. Photosynthese eines entblättrten Sproßstückes in $^{14}\text{CO}_2$ in größeren Umfang markiert. Im Rhizom erfolgte zur Zeit der Versuchsdurchführung keine Speicherung von Saccharose

und Umbelliferose. Beide Zucker wurden vermutlich für das Ausläuferwachstum verbraucht (s. 3.1.2.).

3.2.5. Ableitung von Saccharose und Umbelliferose vom
Blatt in die Wurzel bei Anthriscus cerefolium
(11.11.69)

Anthriscus cerefolium enthält im Gegensatz zu Aegopodium podagraria nur wenig Umbelliferose im Blatt (s. 2.1.). Ein Ableitungsversuch ergab aber im Prinzip die gleichen Ergebnisse (Tab. 11), nämlich daß viel Saccharose und wenig Umbelliferose abgeleitet wird.

Zum Versuchszeitpunkt (Spätherbst) wurde in der Wurzel Stärke gebildet; dieser Umstand kann den Saccharoseabfall im Wurzelbereich erklären. Der schwache Anstieg von Umbelliferose (etwa 6 %) beruht auf einer Anhäufung von abgeleiteter Umbelliferose; eine de novo Synthese aus abgeleiteter Saccharose konnte aufgrund der intramolekularen Verteilung des ^{14}C in Umbelliferose ausgeschlossen werden.

Tab. 11 Prozentualer Anteil von Umbelliferose, Saccharose und der restlichen Verbindungen am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion des Blattes, der aufeinanderfolgenden Sproßabschnitte (1-7), des Epicotyls und der Hauptwurzel nach 4 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und anschließender 4-stündiger Verdunklung des Blattes von *Anthriscus cerefolium* am 11.11.69.

Pflanzenteil		Umbelliferose	Saccharose	Rest
Blatt		9,8	52,4	37,8
Sproßabschn. 1		17,9	57,6	24,5
"	2	16,8	69,0	14,2
"	3	13,3	73,0	13,7
"	4	13,0	75,4	11,6
"	5	13,9	73,8	12,3
"	6	13,8	72,3	13,9
"	7	12,4	73,5	14,1
Epicotyl.		15,6	60,0	24,5
Hauptwurzel		18,5	52,7	28,8

3.3. Umsatz der Umbelliferose und anderer Kohlenhydrate in reifenden Früchten von Carum carvi

Reife Früchte von Umbelliferen zeichnen sich durch einen hohen Gehalt an Umbelliferose aus. Dagegen konnte in Blüten, wie auch in halbreifen, grünen Früchten keine Umbelliferose nachgewiesen werden. Es muß daher angenommen werden, daß Umbelliferose erst in späteren Reifestadien gebildet wird.

3.3.1. Vorkommen von verschiedenen Zuckern in Blüten, reifenden Früchten und Doldenstrahlen von Carum carvi

Blüten, reife Früchte und Doldenstrahlen wurden extrahiert und die Zucker papierchromatographisch analysiert. Parallel dazu wurden Umbelliferose, Saccharose, Trehalose, Glucose und Fructose quantitativ bestimmt. Wegen der Winzigkeit der Früchte (kleiner als 5 mm) war die sonst übliche Angabe der Meßergebnisse in mg/Frucht nicht möglich. Die Veränderung im Gehalt verschiedener Kohlenhydrate während der Frucht-reifung zeigt die Abb. 10.

Die Blüte vom 1.5. bis 15.5. war durch einen hohen Gehalt an Saccharose und einen geringen an Glucose und Fructose gekennzeichnet. Nach dem Verblühen setzte das Größenwachstum der Früchte ein. Dabei verminderte sich der Gehalt an Saccharose, während sich der Gehalt an Glucose und Fructose fast vervierfachte. Ein entscheidender Einschnitt trat um den 12.6. ein. Bis zu diesem Zeitpunkt ist das Endosperm so weit entwickelt, daß die Speicherung von Kohlenhydraten beginnen konnte. Dabei liefen zwei Prozesse parallel, nämlich einerseits Anhäufung von Saccharose und Umbelliferose und andererseits die Ablagerung des Reservepolysaccharides (Mannan) im Endosperm (s.3.3.4.). Wie

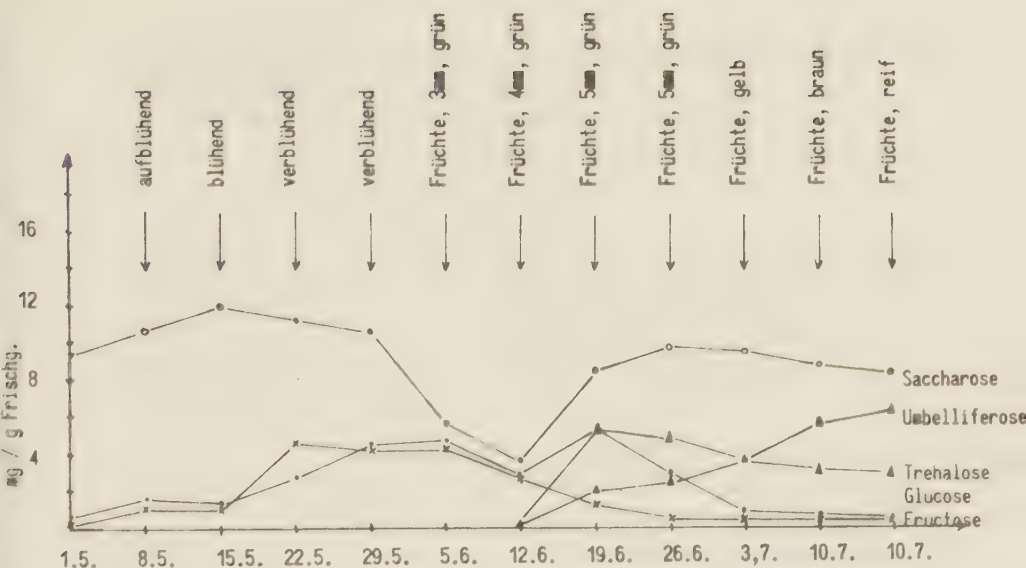


Abb. 10 Gehalt verschiedener Kohlenhydrate in reifenden Früchten von *Carum carvi* im Sommer 1972

eine Untersuchung von Endosperm und Fruchtwand im getrennten Zustand zeigt (Tab. 12), wurden Saccharose und Umbelliferose im Endosperm akkumuliert, während sie in der Fruchtwand fast auf Null sanken; Glucose und Fructose waren dagegen in der Fruchtwand stärker vertreten, nahmen aber mit zunehmender Reife ebenfalls ab. Eine vollständige Trennung von Endosperm mit Embryo einerseits und Fruchtwand andererseits war nur im Zeitraum vom 19.6. bis 3.7. möglich; zuvor lag das Endosperm als glasige Masse vor, später waren beide Teile so stark verwachsen, daß nur eine unvollständige Trennung möglich war. Die Endphase der Reifung trat ein, als die Früchte anfangen gelb zu werden. Das Ende der Photosynthese zeigt der sinkende

Tab. 12 Die Veränderungen im Gehalt an Umbelliferose, Saccharose, Glucose und Fructose in der Fruchtwand und im Endosperm von *Carum carvi* während des Endstadiums der Fruchtreifung.

Zucker		Fruchtwand (mg)	Endosperm (mg)
Umbelliferose,	19.6.72	0,52	1,00
"	, 26.6.72	0,15	2,05
"	, 3.7.72	0,09	2,52
Saccharose,	19.6.72	5,63	6,35
"	, 26.6.72	2,50	10,33
"	, 3.7.72	0,92	8,86
Glucose,	19.6.72	3,99	0,72
"	, 26.6.72	2,07	0,56
"	, 3.7.72	0,09	0,15
Fructose,	19.6.72	0,81	0,28
"	, 26.6.72	0,51	0,18
"	, 3.7.72	0,09	0,06

Gehalt an Saccharose ab 3.7. an, die offensichtlich noch zur Synthese der Umbelliferose verbraucht wird. Gleichzeitig sank der Wassergehalt der Früchte beträchtlich. Während von der Blüte bis zum 19.6. ein nahezu konstanter Wassergehalt von 80 % vorhanden war, verminderte er sich bis zum Abfallen der reifen Früchte am 10.7. auf 30 %.

Während der Blüte wurde bei *Carum carvi* (wie auch bei vielen anderen Umbelliferen) eine starke Nektarabsonderung beobachtet, die aus Saccharose, sowie aus Glucose, Fructose und Inosit bestand. In isolierten Pollen konnte Saccharose, Glucose und Fructose nachgewiesen werden.

Von den drei in reifen *Carum carvi* Früchten neu identifizierten Oligosacchariden Trehalose, Glucosylmannose und Mannitglucosid erreichte nur Trehalose eine genügende Konzentration, um sie während der Fruchtreifung verfolgen zu können (Abb. 11a-c). Trehalose war erstmals am 19.6. nachweisbar und wurde zu Beginn der Endosperm bildung stark angereichert, nahm jedoch mit zunehmender Fruchtreife wieder ab; sie war dabei nur im Endosperm nachweisbar.

Parallel zu den Blüten und reifenden Früchten wurden stets die dazugehörenden Doldenstrahlen in gleicher Weise analysiert (Abb. 12) Dabei zeigte sich, daß bis zum 12.6., dem Beginn der Reservestoffeinlagerung im Endosperm, wenig Veränderungen auftraten. Es wurden dabei sehr konstant 8 mg/g Fgw. Saccharose und Glucose festgestellt. Diese charakteristische Verteilung der Monosaccharide wurde auch schon bei dem Ableitungsversuch von *Aegopodium podagraria* (s. 3.2.4.) in den oberen Sproßabschnitten festgestellt. Mit dem Beginn der Reservestoffeinlagerung kam es zu einem Anstieg von Saccharose und Glucose auf das Doppelte. Beide Zucker wurden aber dann während der Fruchtreifung weit-



Abb. 11a

Papierchromatogramm vom Zuckerextrakt aus der reifenden Frucht von *Carum carvi* am 12.6.72. Sichtbarmachung der Zucker mit Silbernitrat nach Trevelyan, 1950



Abb. 11b

Wie Abb. 11a, aber Zuckerextrakt aus dem Endosperm von *Carum carvi* am 19.6.72

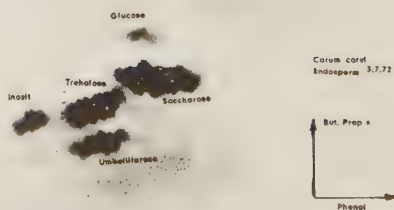


Abb. 11c

Wie Abb. 11b, aber am 3.7.72

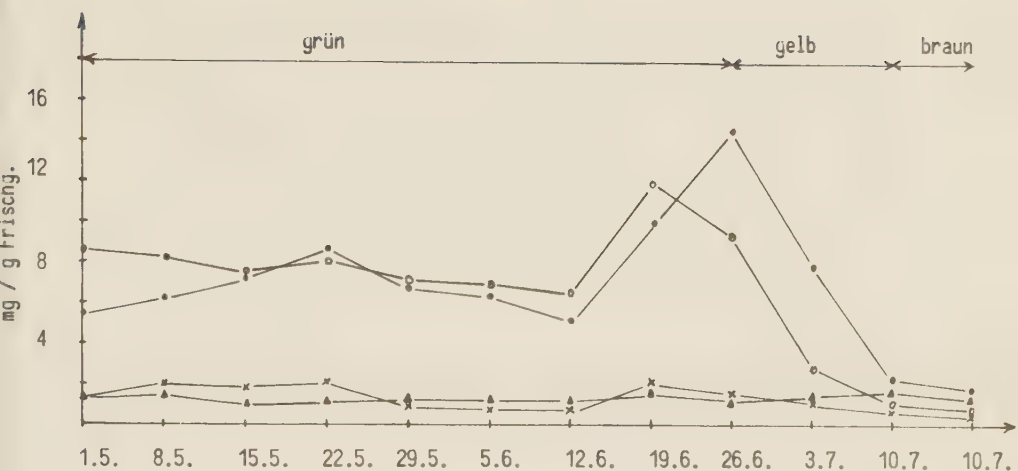


Abb. 12 Gehalt verschiedener Kohlenhydrate in Doldenstrahlen von reifenden Früchten von *Carum carvi* im Sommer 1972.

○—○ Saccharose, ▲—▲ Umbelliferose, ●—● Glucose, ×—× Fructose

gehend verbraucht; in den abgestorbenen braunen Doldenstrahlen waren nur noch Spuren vorhanden.

3.3.2. Photosynthese von reifenden Früchten von *Carum carvi* in $^{14}\text{CO}_2$

Früchte mit Doldenstrahlen wurden vom Sproß entfernt und nach 1 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ bzw. 1 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und anschließend 6 Std. Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$ getrennt auf die gebildeten markierten Verbindungen untersucht.

3.3.2.1. Aktivitätsverteilung auf Doldenstrahlen und Frucht (Tab. 13)

Die Aktivitätsverteilung auf Doldenstrahlen und Frucht zeigt, daß nach 1 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ 2/3 der Aktivität in den Doldenstrahlen, dagegen nur 1/3 in der Frucht zu finden war. Die anschließende 6-stündige Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$ brachte eine Verschiebung zu Gunsten der Frucht, deren Anteil sich verdoppelte. Die Aktivität wurde dabei im Endosperm gespeichert.

3.3.2.2. Prozentualer Anteil verschiedener Zucker in reifenden Früchten von Carum carvi (Tab. 14 und Abb. 13a-c)

Nach allen Photosynthesezeiten hatte Saccharose einen dominierenden Anteil von mehr als 60 %. Die Nachbehandlung in $^{12}\text{CO}_2$ ergab jedoch stets eine Abnahme im Anteil der Saccharose; dies bedeutet, daß Saccharose umgesetzt wurde. Umbelliferose und Trehalose wurden erstmals am 19.6. markiert. Für Umbelliferose stieg der Anteil mit zunehmender Fruchtreife an. Es muß deshalb angenommen werden, daß in gelben und braunen Früchten, also in der Endphase der Fruchtreifung, Umbelliferose weiterhin noch gebildet wurde. Die Synthese der Trehalose durchlief um den 26.6. ein Maximum. Da zu diesem Zeitpunkt ihre Absolutmenge bereits wieder im Abnehmen ist, muß auf einen intensiven Umsatz geschlossen werden. Glucosylmannose und Mannit-glucosid traten nicht als markierte Verbindungen auf. Daraus wurde der Schluß gezogen, daß beide Oligosaccharide erst in den letzten Reifestadien gebildet wurden. Wie die Abb. 13a,c zeigen, bildet Carum carvi bei Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ stets geringe Mengen an markierter Raffinose und markiertem Galactinol. Die gleiche Beobachtung konnte auch an Blättern (s. 5.1.2.) gemacht werden.

Tab. 13 Prozentualer Anteil am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion der Doldenstiele, reifenden Früchte, Fruchtwand nach 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ bzw. 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und anschließend 6 Std. Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$ bei *Carum carvi*. (- = keine Trennung in Fruchtwand und Endosperm möglich)

Datum	Photosynthese- dauer	Doldenst.	Frucht	Fruchtw.	Endosp.
29.5.72	60 Min.	74,4	25,4	-	-
	60 Min. + 6 Std.	51,9	48,2	-	-
5.6.72	60 Min.	75,8	24,2	-	-
	60 Min. + 6 Std.	46,0	54,0	-	-
12.6.72	60 Min.	88,4	11,6	-	-
	60 Min. + 6 Std.	62,1	37,9	-	-
19.6.72	60 Min.	78,8	21,2	16,9	4,3
	60 Min. + 6 Std.	40,2	59,8	22,6	37,2
26.6.72	60 Min.	73,1	26,8	22,7	4,1
	60 Min. + 6 Std.	48,4	51,5	25,7	25,8
3.7.72	60 Min.	74,3	25,6	15,9	9,7
	60 Min. + 6 Std.	57,5	42,5	15,9	26,6

Tab. 14 Prozentualer Anteil verschiedener Zucker am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion der reifenden Früchte von *Carum carvi* nach 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ (1) und nach 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und anschließend 6 Std. Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$ (2). (- = nicht ^{14}C -markiert)

Datum	Photosynthese- dauer	Umbelliferose	Raffinose	Trehalose	Saccharose	Galactinol	Glucose	Fructose
29.5.	(1)	-	0,2	-	57,4	-	9,1	8,3
	(2)	-	0,4	-	55,6	-	10,1	6,6
5.6.	(1)	-	0,2	-	64,4	0,1	1,7	1,3
	(2)	-	0,7	-	51,9	0,1	2,8	1,6
12.6.	(1)	-	0,3	-	57,7	-	2,6	1,9
	(2)	-	0,3	-	49,6	-	11,2	5,5
19.6.	(1)	0,01	0,1	0,1	72,5	0,1	5,0	3,7
	(2)	0,4	0,1	3,5	60,5	0,02	7,0	1,9
26.6.	(1)	0,02	0,2	0,2	75,8	0,1	4,8	3,0
	(2)	1,1	0,1	4,3	60,5	0,05	4,2	1,9
3.7.	(1)	0,2	0,2	0,3	65,5	0,1	3,9	2,3
	(2)	3,0	0,1	1,5	62,5	0,09	2,8	2,2



Abb. 13a

Radioautogramm des
Papierchromatogramms
des Extraktes der Fruchtwand von *Carum carvi*
am 19.6.72 nach 60 Min.
Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$
und anschließend 6 Std.
Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$

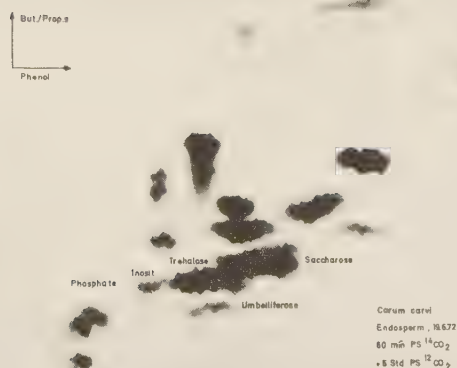


Abb. 13b

Wie Abb. 13a, jedoch
Extrakt des Endosperms

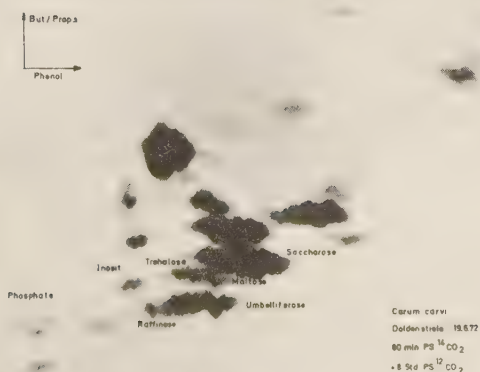


Abb. 13c

Wie Abb. 13a, jedoch
Extrakt der Doldenstiele

3.3.2.3. Prozentualer Anteil verschiedener Zucker in der Fruchtwand und im Endosperm (Tab. 15)

Wie bereits in 3.3.2. festgestellt, ist es nur in einem kurzen Abschnitt der Fruchtreife möglich Fruchtwand und Endosperm getrennt zu untersuchen. Wie die Verteilung zeigt, wurde in der Fruchtwand hauptsächlich Saccharose gebildet, alle anderen Zucker (Umbelliferose, Trehalose, Raffinose und Galactinol) spielten nur eine untergeordnete Rolle. Im Endosperm wurde überwiegend Saccharose (mehr als 50 %) akkumuliert, aber nur relativ wenig Umbelliferose.

3.3.2.4. Prozentualer Anteil verschiedener Zucker in den Doldenstrahlen reifender Früchte von Carum carvi (Tab. 16)

Nach 1 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ hatte Saccharose einen dominierenden Anteil von 60 - 80 %; anschließende 6-stündige Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$ ergab jedoch einen Abfall ihres Anteils um 30 - 50 %. Im Gegensatz dazu wiesen alle anderen markierten Zucker (Raffinose, Umbelliferose, Trehalose, Galactinol, Monosaccharide) nur einen geringen Anteil auf, den sie jedoch in der Regel bei anschließender Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$ vergrößern konnten. Der Abfall in der Saccharose läßt sich dadurch erklären, daß Saccharose einerseits rasch umgesetzt wurde und andererseits als Transportzucker in die Früchte dient.

3.3.2.5. Bestimmung des Hydrolysierbaren in reifenden Früchten von Carum carvi nach Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$

Die Früchte wurden nach der alkoholischen Extraktion 4 Std. mit 2n HCl bei 100°C hydrolysiert. Dabei zeigt die freigesetzte ^{14}C -Glucose die Bildung von Stärke, die freigesetzte ^{14}C -Mannose die Bildung von Mannan an. Wie aus Tab. 17 zu

Tab. 15 Prozentualer Anteil verschiedener Zucker am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion der Fruchtwand und des Endosperms von reifenden Früchten von *Carum carvi* nach 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ (1) und 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und anschließend 6 Std. Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$ (2). (- = nicht ^{14}C -markiert)

Datum		Photosynthese- dauer	Umbelliferose	Raffinose	Trehalose	Saccharose	Galactinol	Glucose	Fructose
E n d o s p e r m									
19.6.	(1)	0,1	-	1,2	50,5	-	21,8	3,7	
	(2)	0,4	-	11,0	61,7	-	5,9	1,1	
26.6.	(1)	0,2	-	1,4	55,0	-	17,9	3,4	
	(2)	1,5	-	7,1	62,5	-	2,7	0,8	
3.7.	(1)	0,5	-	1,0	58,6	-	7,8	1,0	
	(2)	4,4	-	2,3	71,7	-	1,6	1,1	
F r u c h t w a n d									
19.6.	(1)	-	0,1	-	74,9	0,1	4,2	4,1	
	(2)	0,4	0,2	0,6	59,5	0,1	11,6	3,4	
26.6.	(1)	-	0,2	-	79,1	0,1	3,6	4,0	
	(2)	0,6	0,2	0,1	57,4	0,1	5,7	2,2	
3.7.	(1)	-	0,2	-	69,5	0,2	3,2	3,9	
	(2)	0,3	0,4	-	43,7	0,1	7,5	6,3	

Tab. 16 Prozentualer Anteil verschiedener Zucker am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion der Doldenstrahlen von reifenden Früchten von *Carum carvi* nach 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ (1) und 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ Und anschließend 6 Std. Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$ (2).
(- = nicht ^{14}C -markiert)

Datum	Photosynthese - dauer	Umbelliferose	Raffinose	Trehalose	Saccharose	Galactinol	Glucose	Fructose
29.5.	(1)	0,1	0,2	-	68,5	0,2	5,7	3,6
	(2)	0,8	0,1	-	44,1	0,2	18,4	1,8
5.6.	(1)	0,1	0,3	-	77,4	0,6	1,3	1,1
	(2)	4,5	0,1	-	50,0	0,1	8,7	1,7
12.6.	(1)	0,1	0,2	-	73,9	0,6	3,4	3,1
	(2)	2,7	0,1	0,2	49,5	0,1	17,8	4,4
19.6.	(1)	0,1	0,2	-	75,0	0,5	6,1	5,5
	(2)	3,7	0,3	2,5	54,6	0,2	14,3	4,2
26.6.	(1)	0,1	0,1	-	83,9	0,3	2,9	1,9
	(2)	3,2	0,2	-	44,9	0,1	21,5	4,3
3.7.	(1)	0,1	0,1	-	63,1	0,1	11,7	10,6
	(2)	-	0,1	-	33,2	0,1	31,6	8,7

Tab. 17 Prozentualer Anteil von Glucose und Mannose am ^{14}C -Gehalt des Hydrolysats von reifenden Früchten von *Carum carvi* nach 1 Std. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und 6 Std. Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$. (- = nicht ^{14}C -markiert). GF = Gesamtf Frucht, F = Fruchtwand, E = Endosperm.

Datum	G l u c o s e			M a n n o s e		
	GF	F	E	GF	F	E
29.5.	14,8			2,3		
5.6.	16,7			2,6		
12.6.	25,6			3,5		
19.6.	27,7	40,8	-	17,4	6,0	41,8
26.6.	25,1	55,4	-	24,4	1,0	45,9
3.7.	40,8	84,9	-	15,9	-	30,3

Tab. 18 Prozentualer Anteil verschiedener Zucker am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion (ohne gefütterte Verbindung) von Endosperm und Fruchtwand reifender Früchte von *Carum carvi* nach 4 Std. Fütterung von ^{14}C -Kohlenhydraten im Licht am 5.7.72. (- = nicht markiert)

Gefüttertes ^{14}C -Kohlenhydrat

Markierte Verbindung	Galactose	Glucose	Fructose	Saccharose
	Fruchtwand			
Umbelliferose	-	-	-	-
Saccharose	14,5	6,3	16,6	
Trehalose	-	-	-	-
	Endosperm			
Umbelliferose	4,4	8,5	5,8	11,5
Saccharose	14,1	7,7	35,0	
Trehalose	9,3	10,9	10,5	4,1

entnehmen ist, findet sich Stärke nur in der Fruchtwand; das Endosperm dieser reifenden Früchte wie auch das Endosperm reifer Früchte ist stärkefrei. Mannan wurde in größerer Menge erst ab 19.6. gebildet, dem Beginn der Kohlenhydratspeicherung in der Frucht. Es wurde dabei fast ausschließlich im Endosperm gefunden.

3.3.3. Markierung von Umbelliferose, Saccharose und Trehalose im Endosperm und in der Fruchtwand reifender Früchte von Carum carvi nach Fütterung von U-¹⁴C-Kohlenhydraten am 5.7.72

Zur Untersuchung der Biosynthese der Umbelliferose wurde eine Fütterung von U-¹⁴C-Kohlenhydraten getrennt an Fruchtwand und Endosperm durchgeführt (s. 5.3.). Dabei konnte festgestellt werden (Tab. 18), daß in der Fruchtwand nur Saccharose, jedoch keine Umbelliferose und Trehalose markiert wurde. Im Endosperm wurden alle drei Oligosaccharide markiert. Diese Ergebnisse bestätigen die vorher gefundene Verteilung der Kohlenhydrate zwischen Endosperm und Fruchtwand.

3.3.4. Zusammenfassung

1. Umbelliferose und andere Kohlenhydrate wurden während der Fruchtreifung bei Carum carvi qualitativ und quantitativ verfolgt.
2. Die Fruchtreifung kann in vier Abschnitte eingeteilt werden: Abschnitt 1 (Blüte) war charakterisiert durch einen hohen Saccharosegehalt. Abschnitt 2 (Größenwachstum der Früchte) war charakterisiert durch einen sinkenden Saccharosegehalt und einen vorübergehenden Anstieg der Monosaccharide. Abschnitt 3 (Akkumulation von Kohlenhydraten) war charakterisiert durch die Speicherung von

Saccharose und Umbelliferose im Endosperm. Gleichzeitig wurde mit dem Aufbau der Reservepolysaccharides Mannan begonnen und auch größere Mengen an Trehalose gebildet. Abschnitt 4 (Endstadium der Reifung): Die Fruchtwand wurde gelb, anschließend braun. Gleichzeitig fiel der Wassergehalt der Früchte innerhalb kurzer Zeit von 80 % auf 30 %. Bis zum Abfallen der reifen Früchte veränderten sich die Kohlenhydrate nicht mehr wesentlich.

3. Photosynthese reifender Früchte in $^{14}\text{CO}_2$ zeigte, daß die Kohlenhydrate für den Fruchtaufbau zu einem Teil in der Fruchtwand selbst gebildet wurden, zum größeren Teil aber aus dem blattlosen, grünen Sproß stammten. Sproß und Fruchtwand enthielten größere Mengen an Stärke; reife Früchte waren stärkefrei.
4. Umbelliferose wurde bei Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ in Fruchtwand und Sproß nur wenig markiert; ebenso konnte nur eine geringe Markierung in Raffinose und Galactinol nachgewiesen werden. Umbelliferose wurde vermehrt im Endosperm erst im Endstadium der Reifung gebildet.
5. Die beiden in Früchten gefundenen Oligosaccharide Glucosylmannose und Mannitglucosid konnten bei Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ nicht markiert erhalten werden. Es ist daher anzunehmen, daß sie ebenfalls erst in den letzten Reifestadien gebildet wurden.

3.4. Umsatz der Umbelliferose und anderer Kohlenhydrate in keimenden Samen von Carum carvi

Samen von Carum carvi keimen nach dem Abfallen von der Blütendolde im Sommer bald aus. Bei Anzucht im Brutschrank bei 30°C waren die Samen nach Ablauf von 2 Wochen gekeimt. Keimungsverlauf: Die Früchte quollen anfangs stark auf und

nach etwa einer Woche trat die Keimwurzel aus den Früchten hervor; innerhalb der nächsten Tage erfolgte ein intensives Streckungswachstum und das Endosperm wurde von den Cotyledonen aufgelöst. Die Endphase der Keimung bestand in einem starken Streckungswachstum des Hypocotyls; gleichzeitig traten die Cotyledonen aus der restlichen Frucht hervor und ergrüntem.

Da in den ergrüntem Keimlingen, wie auch in allen Pflanzenteilen von *Carum carvi* nur ein geringer Gehalt an Umbelliferose festgestellt wurde (1-2 mg/g Fgw.), war anzunehmen, daß die in den Früchten gespeicherte Umbelliferose während der Keimung verbraucht wurde.

3.4.1. Veränderungen im Kohlenhydratgehalt in Keimlingen von *Carum carvi* während der Keimung

Zu Beginn, nach 8, 12 und 16 Tagen wurden keimende Früchte extrahiert, wobei stets eine Trennung in Embryo bzw. Keimling und Endosperm (-rest) mit Fruchtwand erfolgte. Die Extrakte wurden papierchromatographisch analysiert und parallel dazu Umbelliferose, Saccharose, sowie Glucose und Fructose quantitativ bestimmt.

Der schon beschriebene Keimungsverlauf läßt sich, wenn man den Kohlenhydratumsatz betrachtet (Abb. 14), in zwei Abschnitte einteilen:

Abschnitt 1 (Resorptions- und Akkumulationsphase des Embryos): In der reifen Frucht liegt der 1-2 mm große Embryo im Endosperm. Er enthält nur wenig Kohlenhydrate. In isolierten Embryonen konnte Umbelliferose, Saccharose, Glucose und Fructose nachgewiesen werden. Während des 1. Abschnittes nimmt der Keimling stark an Gewicht zu (Tab. 19) und akkumuliert in größerer Menge Saccharose, Umbelliferose und Glucose. Diese Zuckerspeicherung im wachsenden Keimling

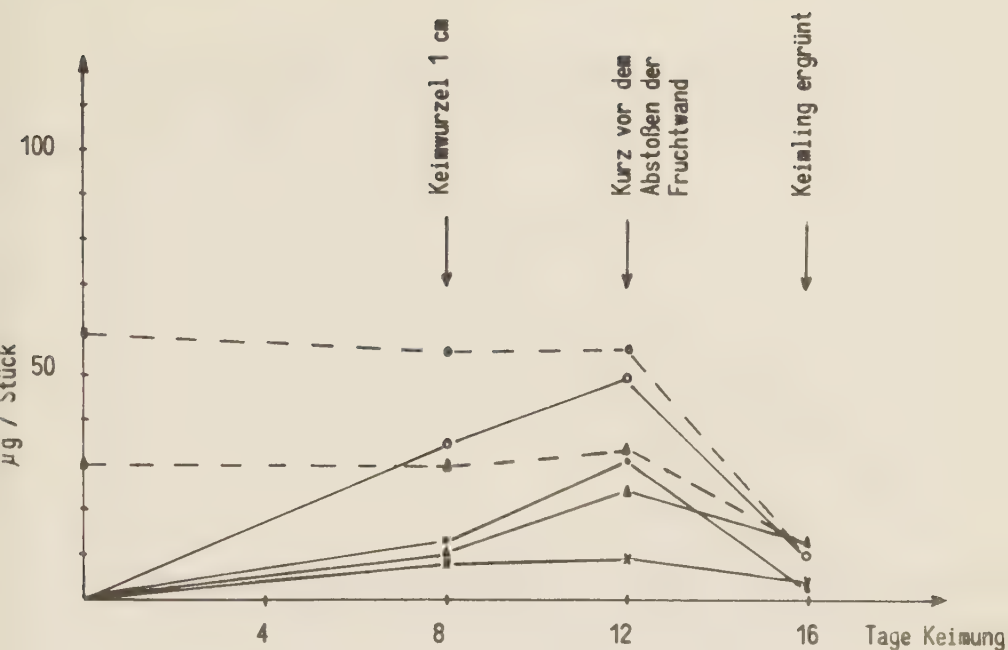


Abb. 14 Veränderung des Gehalts an löslichen Kohlenhydraten bei der Keimung von Früchten von *Carum carvi*. — Embryo bzw. Keimling, --- Frucht einschließlich Keimling, ○ Saccharose, ● Glucose, x Fructose, ▲ Umoelliferose

dauerte so lange, bis das Endosperm (Mannan) aufgelöst und resorbiert war. Trehalose, Glucosylmannose und Mannitglucosid konnten bei der ersten Analyse nach 8 Tagen nicht mehr nachgewiesen werden.

Abschnitt 2 (Streckungswachstum des Keimlings und Ergrünen): Während des Streckungswachstums des Hypocotyls vom 12. - 16. Tag und dem gleichzeitigen Ergrünen der Cotyledonen wurde

Tab. 19 Veränderungen im Trockengewicht (mg) des Embryos, sowie der Fruchtwand mit Endospermrest während der Keimung.

<u>Embryo</u>	<u>mg</u>	<u>Fruchtw. + Endosperm(rest)</u>	<u>mg</u>
E ₁	0,1	F ₁	2,80
E ₂	0,52	F ₂	1,27
E ₃	0,82	F ₃	0,80
E ₄	1,60	F ₄	0,40
E ₁ - Embryo in der Frucht		F ₁₋₃ - Fruchtwand + Endosperm	
E _{2,3} - Embryo mit Keimwurzel		F ₄ - abgestoßene Fruchtwand	
E ₄ - Keimling ergrünt		mit Endospermrest	

Tab. 20 Prozentualer Anteil der Metabolisierungsprodukte (1) am ¹⁴C-Gehalt der löslichen Fraktion und prozentualer Anteil verschiedener Kohlenhydrate am ¹⁴C-Gehalt der Metabolisierungsprodukte nach 4 Std. Fütterung von U-¹⁴C-Kohlenhydraten an 8 Tage alte Keimlinge von *Carum carvi*.
(Rest = Zuckerphosphate, Aminosäuren, Carbonsäure, S. Abb. 15a-c).

		¹⁴ C-markierte Kohlenhydrate (2)				
Gefütterte Verb. (1)		Umbelliferose	Saccharose	Glucose	Fructose	Rest
Saccharose	58,4	41,5	-	3,8	2,3	52,4
Umbelliferose	66,1	-	64,5	2,2	1,3	32,0
Galactose	94,3	17,5	10,6	1,1	0,4	70,4
UDP-Galactose	96,2	16,4	16,1	2,1	1,9	62,9
Glucose	93,7	21,3	9,6	-	-	69,1
Fructose	97,5	26,7	12,5	1,0	-	59,8
Mannose	94,3	19,2	21,1	1,2	1,8	56,7

Saccharose, Umbelliferose und Glucose weitgehend verbraucht. In ergrüntem Cotyledonen konnte bei Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ markierte Umbelliferose nachgewiesen werden.

3.4.2. Fütterung von U- ^{14}C -Kohlenhydrate an 8 Tage alte Keimlinge von *Carum carvi*

Die im ersten Abschnitt der Keimung festgestellte Anhäufung von Saccharose und Umbelliferose im Keimling gab Anlaß zu der Frage, ob diese beiden im Endosperm gespeicherten Zucker nur resorbiert oder zunächst abgebaut und im Keimling neu synthetisiert wurden.

Die acht Tage alten Keimlinge (etwa 1 cm groß) wurden vom Endosperm und Fruchtwand befreit. Anschließend wurden sie 4 Std. in wässrigen Lösungen von U- ^{14}C -Kohlenhydraten (Saccharose, Umbelliferose, Galactose, Glucose, Fructose, Mannose) inkubiert. Die Lösungen wiesen eine Aktivität von 10 μCi auf. Nach Extraktion und chromatographischer Trennung wurde der prozentuale Anteil der markierten Verbindungen am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion (ohne den Rest der gefütterten Verbindung) untersucht.

Aus der Tab. 20 (1) ist zu entnehmen, daß die aufgenommenen Monosaccharide sehr schnell umgesetzt wurden, während für Saccharose und Umbelliferose auf eine teilweise Akkumulierung geschlossen werden kann. Die Abb. 15a-c zeigen das Ergebnis von drei Fütterungsversuchen. Man kann aus ihnen (wie auch aus Tab. 20 (2)) entnehmen, daß unabhängig vom gefütterten Kohlenhydrat Saccharose und Umbelliferose markiert wurden. Damit war bewiesen, daß im Keimling eine Neusynthese von Umbelliferose und Saccharose stattfindet. Die Untersuchung der intramolekularen Verteilung des ^{14}C in Umbelliferose (Tab. 21) aus den Keimlingen nach Fütterung von U- ^{14}C -Umbelliferose (bzw. U- ^{14}C -Saccharose) ergab, daß keine uni-

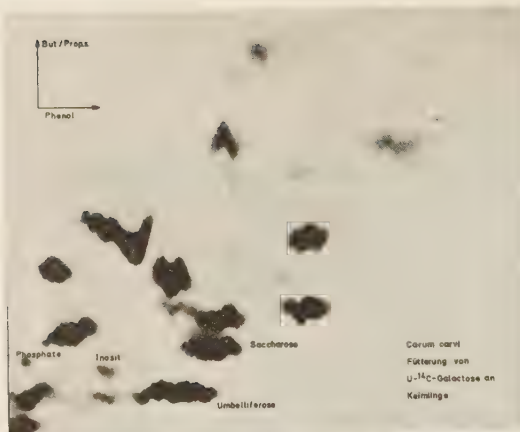


Abb. 15a

Radioautogramm des
Papierchromatogramms
des Extraktes (lösliche
Fraktion) von Keimlingen
von *Carum carvi* nach
4 Std. Fütterung
von $U-^{14}C$ -Galactose

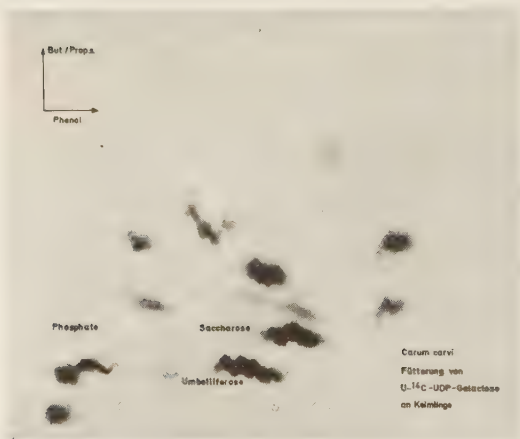


Abb. 15b

Wie Abb. 15a, aber
Fütterung von UDP-
Galactose- $U-^{14}C$

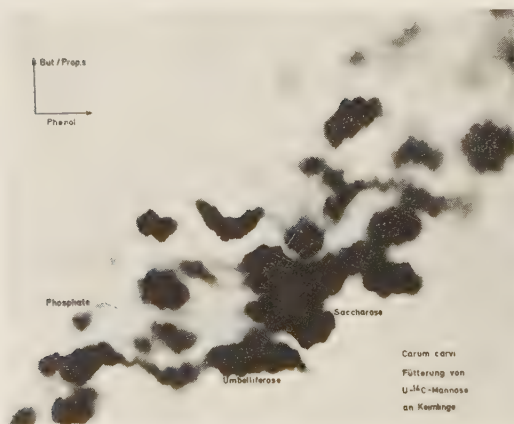


Abb. 15c

Wie Abb. 15a, aber
Fütterung von $U-^{14}C$ -
Mannose

Tab. 21 Intramolekulare Verteilung des ^{14}C in Saccharose und Umbelliferose nach Fütterung von ^{14}C -Kohlenhydraten an 8 Tage alte Keimlinge von *Carum carvi*.

^{14}C -markierte Verbindung	Galactose	Glucose	Fructose
<u>U-^{14}C-Saccharose Fütterung</u>			
Saccharose		50,1	49,9
Umbelliferose	50,6	25,2	24,2
<u>U-^{14}C-Umbelliferose Fütterung</u>			
Saccharose		50,4	49,6
Umbelliferose	50,8	24,9	24,3
<u>U-^{14}C-Galactose Fütterung</u>			
Saccharose		51,6	48,4
Umbelliferose	89,2	5,4	5,4
<u>U-^{14}C-Glucose Fütterung</u>			
Saccharose		50,8	49,2
Umbelliferose	92,7	4,1	3,2
<u>U-^{14}C-Fructose Fütterung</u>			
Saccharose		50,2	49,8
Umbelliferose	88,2	6,3	5,8
<u>U-^{14}C-Mannose Fütterung</u>			
Saccharose		50,5	49,5
Umbelliferose	50,8	25,3	23,9

forme Markierung mehr vorlag; nur der Saccharoseanteil der Umbelliferose war nahezu uniform markiert. Damit stand fest, daß der Keimling Umbelliferose (bzw. Saccharose) zumindest nicht ausschließlich ungespalten resorbieren konnte. Da auch bei der Fütterung von Monosacchariden der Saccharoseanteil der Umbelliferose nahezu uniform markiert war, dürfte bei der Aufnahme von Monosacchariden durch den Keimling folgender Weg beschritten werden: Die aufgenommenen Zucker werden als Zuckerphosphate in den Stoffwechsel eingeschleust. Die Umwandlung der Zuckerphosphate untereinander und in Zuckernukleotide erfolgt so schnell, daß die Saccharosephosphat-Synthetase nahezu gleichmarkiertes Fructose-6-P und UDP-Glucose erhält; das Ergebnis ist eine nahezu uniform markierte Saccharose, die sich mit der im Keimling vorhandenen nichtmarkierten Saccharose mischt. Die Umbelliferosesynthetase verwendet dieses Gemisch und überträgt dabei von den Zuckernukleotiden stammende sehr aktive Galactose auf Saccharose. Damit kann erklärt werden, daß der Galactoseteil der Umbelliferose stets bevorzugt markiert war. Wie in Kap. 6 näher ausgeführt ist, erfolgt die Biosynthese der Umbelliferose durch die Übertragung einer Galactose von UDP-Galactose auf Saccharose. Galactinol dient nicht als Galactosyldonor; es wurde auch bei keiner Fütterung markiert erhalten.

3.4.3. Untersuchung über den Abbau des Mannans

Während des Abbaues des Mannans bei der Keimung konnte in vivo nie freie Mannose nachgewiesen werden. Auch beim enzymatischen Abbau des Mannans (s. 1.2.2.) in vitro mit einer Enzympräparation aus Keimlingen von *Carum carvi* wurde nicht freie Mannose, sondern nur Glucose gefunden. Mit der gleichen Enzympräparation konnte auch Mannose in Glucose

umgewandelt werden. Diese Befunde lassen vermuten, daß die beim Abbau des Mannans freiwerdende Mannose durch eine 2-Epimerase sofort in Glucose umgewandelt wird. Möglicherweise spielt auch eine 2-Epimerase eine Rolle bei der Biosynthese des Mannans, indem sie XDP-Glucose in XDP-Mannose umwandelt. Als Nukleotid könnte dabei GDP in Frage kommen, nachdem Behrens et al. (1968) eine Beteiligung von GDP-Mannose bei der Biosynthese des Mannans in der Hefe nachweisen konnten.

3.4.4. Zusammenfassung

Diese Versuche erlauben folgende Aussagen:

1. Der 1-2 mm große Embryo aus reifen Früchten von *Carum carvi* enthält nur geringe Mengen an Kohlenhydraten (hauptsächlich Saccharose und Umbelliferose, wenig Glucose und Fructose).
2. Die Keimung verläuft in zwei Abschnitten: Zunächst häuft der wachsende Keimling Kohlenhydrate an (Saccharose, Umbelliferose, Glucose). Das Mannan wird dabei abgebaut. Anschließend erfolgt ein intensives Streckungswachstum des Hypocotyls; die im Keimling angehäuften Kohlenhydrate werden dabei weitgehend verbraucht.
3. Die Fütterung von $U-^{14}C$ -Kohlenhydraten an isolierte Keimlinge ergab, daß Saccharose und Umbelliferose im Keimling neu synthetisiert werden.
4. Keimlinge mit ergrüntem Cotyldonen bildeten bei Photosynthese in $^{14}CO_2$ bereits markierte Saccharose und Umbelliferose (Tab. 2).

3.5. Diskussion zur Physiologie der Umbelliferose

Im Stoffwechsel von einjährigen Umbelliferen spielt die Umbelliferose vermutlich nur eine untergeordnete Rolle, denn sie erreicht in allen Pflanzenteilen nur geringe Mengen, die zudem noch wenig umgesetzt werden. In zwei- und mehrjährigen Umbelliferen dagegen kann sie in größerer Menge in den Blättern und in den Wurzeln bzw. Rhizomen auftreten. Sie dient dabei wahrscheinlich neben Saccharose als Speicheroligosaccharid. Damit steht im Zusammenhang, daß, wie bei *Aegopodium podagraria* gezeigt, neben Saccharose auch Umbelliferose aus den Blättern abgeleitet wird.

Der Umsatz der Umbelliferose in reifenden und keimenden Früchten von Umbelliferen verläuft ähnlich wie der von Raffinosezuckern in reifenden und keimenden Samen von *Phaseolus vulgaris* den Tanner et al. (1968) beschrieb: Umbelliferose wird erst im Endstadium der Fruchtreifung in größerer Menge gebildet und während der Keimung wieder verbraucht.

Während des Winters können zwei- und mehrjährige Umbelliferen Saccharose und Umbelliferose in ihren Wurzeln bzw. Rhizomen anhäufen. Sie zeigen damit ein ähnliches Verhalten wie die Raffinose-haltigen Pflanzen, deren winterliche Oligosaccharidanreicherung Jeremias (1969) und Senser et al. (1971) beschrieben.

In der Einleitung wurde die Frage gestellt, ob Raffinose bei Umbelliferen überhaupt vorkommt und ob nicht die Umbelliferose ihre Rolle im Galactosidstoffwechsel übernommen hat. Diese Frage kann nun dahingehend beantwortet werden, daß in Umbelliferen Raffinose nur in sehr geringen Mengen vorkommt. Ihre Rolle im Galactosidstoffwechsel der

Umbelliferen, der viele Ähnlichkeiten mit dem von Raffinose-haltigen Pflanzen zeigt, wird jedoch von Umbelliferose eingenommen.

4. Das Vorkommen von Trehalose in Früchten und Keimlingen von Carum carvi und in anderen Umbelliferen

4.1. Zusammenfassung der eigenen Ergebnisse

Im folgenden sind die Daten über die Trehalose, die bei der Untersuchung über die Umbelliferose anfielen, kurz zusammengefaßt:

1. Trehalose wurde in reifen Früchten von Carum carvi nachgewiesen (1.1.2.)
2. Untersuchungen über die Verbreitung der Trehalose ergaben, daß viele Umbelliferenfrüchte Trehalose in wechselnder Menge enthalten (2.2.)
3. Die Untersuchungen der Fruchtreifung von Carum carvi ergab, daß Trehalose im Endosperm nur vorübergehend angereichert wird (3.3.4.)
4. In keimenden Früchten konnte Trehalose nicht mehr nachgewiesen werden (3.4.1.)
5. In Enzympräparationen von reifenden Früchten und reifen Früchten, sowie in Keimlingen von Carum carvi konnte Trehalaseaktivität festgestellt werden.

4.2. Bisherige Untersuchungen über das Vorkommen von Trehalose bei Angiospermen

Über das Vorkommen von Trehalose bei Angiospermen gibt es bisher nur wenige Untersuchungen. Oesch und Meier (1967) isolierten Trehalose aus dem Kambialsaft von Fagus silvatica L. und Keen und Williams (1969) fanden sie im

Hypocotyl von *Brassica oleracea* L.. Glasziou und Gayler (1969) konnten Trehalase-Aktivität in Wurzeln, Sproß und Blatt von *Saccharum officinarum* L. nachweisen. Gussin et al. (1969, 1970) fanden erstmals Trehalase-Aktivität in einer Reihe von Pollen, jedoch niemals Trehalose selbst. Gussin (1972) überprüfte daraufhin die Ergebnisse von Oesch und Meier, sowie von Keen und Williams, konnte sie aber nicht bestätigen. Er vermutete, daß das von den Autoren festgestellte Vorkommen von Trehalose auf einer Bakterien- oder Pilzinfektion ihres Pflanzenmaterials beruhte.

4.3. Überprüfung der eigenen Ergebnisse

Wir überprüften unsere Ergebnisse unter dem Gesichtspunkt, daß das Vorkommen von Trehalose möglicherweise auf eine Bakterien- oder Pilzinfektion zurückzuführen ist. Folgende Ergebnisse sprechen gegen eine solche Annahme:

1. Die reifenden Früchte von *Carum carvi* zeigten weder äußerlich, noch bei mikroskopischer Untersuchung eine Infektion. Reife Früchte hatten eine Keimfähigkeit von mehr als 90 %.
2. Die Versuche mit *Carum carvi* wurden 1972 durchgeführt und 1973 wiederholt. Trehalose wurde in den beiden Jahren im gleichen Reifezustand der Früchte gefunden.
3. Eine Untersuchung reifender Früchte anderer Umbelliferen ergab, daß Trehalose stets im gleichen Reifezustand nachzuweisen ist.
4. Trehalose wurde in reifenden Früchten von *Carum carvi* fast ausschließlich im Endosperm gefunden, während Fruchtwand und Doldenstrahlen so geringe Mengen enthielten, daß sie nur mit der ^{14}C -Isotopenmethode nach-

gewiesen werden konnte. Fütterungen von U-¹⁴C-Kohlenhydraten getrennt an Fruchtwand und Endosperm bestätigten die Verteilung.

4.4. Mögliche Rolle des Trehalose-Trehalase-Systems in reifenden Früchten von *Carum carvi*

Glasziou et al. (1969) und Gussin et al. (1969) vermuteten, daß der Auf- und Abbau der Trehalose Teil eines Systems für den Transport von Glucose in pflanzlichen Organen darstellt. Sie bezeichneten dieses Teilsystem als Trehalose-Trehalase-System und nehmen an, daß an Stelle von Glucose bzw. Saccharose Trehalose durch pflanzliche Membranen oder Zellwände transportiert wird. Beide Zucker sollen zunächst in Trehalose umgewandelt werden, die dann die Membran passieren kann. Beim Verlassen der Membran wird sie sofort von Trehalase wieder in Glucose gespalten. Analog zu diesen Vorstellungen könnte das Trehalose-Trehalase-System auch in reifenden Früchten von Umbelliferen von Bedeutung sein (Abb. 16): In der Fruchtwand reifender Früchte findet sich Reservestärke, während reife Früchte stärkefrei sind. Man kann mikroskopisch feststellen, daß die Reservestärke zu Beginn der Mannanbildung rasch abnimmt. Der notwendige Transport der Glucose von der Fruchtwand zum Endosperm könnte dabei vom Trehalose-Trehalase-System vermittelt werden. Trehalose dient dabei im Gegensatz zum Pollen nicht nur als Transportzucker, sondern auch als vorübergehender Glucosylspeicher im Endosperm.

Während der weiteren Frucht reife findet dann ein unvollständiger Abbau der gespeicherten Trehalose statt, so daß in reifen Früchten noch kleinere Mengen nachweisbar sind (s. 2.2.). Dieser Rest an Trehalose wird während der Keimung abgebaut. In 12 Tage alten Keimlingen konnte keine

Trehalose mehr, wohl aber Trehalase-Aktivität nachgewiesen werden. Diese Trehalase-Aktivität könnte mit dem Abbau des Mannans durch den Keimling im Zusammenhang stehen: Wie in 3.4.3. bereits dargestellt, reichert sich während des Mannanabbaues Glucose im Keimling an. Das Trehalose-Trehalase-System könnte dabei wiederum für den Glucosetransport in den Keimling oder im Keimling verantwortlich sein. Dabei kommt es jedoch im Gegensatz zur Mannanbildung nicht zu einer Trehaloseanreicherung.

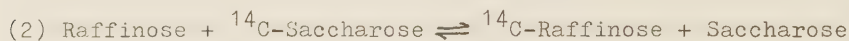
Wir konnten Trehalase-Aktivität nicht nur in reifenden, reifen und keimenden Samen von Umbelliferen, sondern auch im Emulsin erstmals nachweisen. Emulsin ist eine Enzympräparation aus reifen Mandeln, die eine Reihe von Glycohydrolasen (Lee, 1972) enthält. Trehalose selbst konnte in reifenden Mandeln nicht gefunden werden. Obwohl Trehalose selbst nicht vorkommt, vermuten wir aufgrund dieser Beobachtungen, daß das Trehalose-Trehalase-System möglicherweise in reifenden und keimenden Samen verbreitet ist.

5. Untersuchungen zur Biosynthese der Umbelliferose

Die Untersuchungen zur Biosynthese der Umbelliferose orientierten sich an den bisherigen Ergebnissen zur Biosynthese der Raffinose: Fridham und Hassid (1965) konnten eine direkte Übertragung der Galactose von UDP-Galactose auf Saccharose mit einer Enzympräparation aus reifen Samen von *Vicia faba* zeigen:



Moreno und Cardini (1966) beschrieben die Raffinose-Saccharose-Transgalactosidase aus Weizenkeimlingen, die eine Austauschreaktion zwischen Raffinose und Saccharose gemäß folgender Gleichung katalysiert:



Senser und Kandler (1967), sowie Lehle et al. (1970) konnten die enzymatische Übertragung einer Galactose von Galactinol auf Saccharose nachweisen:



Als Arbeitshypothese wurde daher angenommen, daß die Biosynthese der der Raffinose isomeren Umbelliferose analog den Gleichungen 1-3 verlaufen kann.

5.1. Markierungskinetik und Ermittlung des Umsatzes von Umbelliferose

Verwendet wurden voll entwickelte Blätter von *Aegopodium podagraria* (2.6.71), *Carum carvi* (25.6.70, 31.12.70) und *Laserpitium siler* (9.9.69). Nach 5, 10, 20 und 60 Min. Photosynthese in ${}^{14}\text{CO}_2$, sowie 60 Min. Photosynthese in ${}^{14}\text{CO}_2$ und anschließend 2 Std. Photosynthese in ${}^{12}\text{CO}_2$ wurde die ${}^{14}\text{C}$ -Verteilung in der äthanollöslichen Fraktion

festgestellt und der Prozentanteil der radioaktiv markierten Verbindungen, bezogen auf die Gesamtaktivität der löslichen Fraktion, berechnet.

5.1.1. Markierungskinetik bei Aegopodium podagraria

Die Abb. 17a-c zeigen die Radioautogramme der löslichen Fraktion von Aegopodium podagraria nach 5, 10 und 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ am 2.6.71. Bereits nach 5 Min. Photosynthese ruft die Markierung der Umbelliferose eine Schwärzung hervor, die bis 60 Min. Photosynthese an Intensität zunimmt. Eine genauere Aufgliederung ergibt die Abb. 18. Die Markierung der Zuckerphosphate eilt erwartungsgemäß der der übrigen Verbindungen voraus. Saccharose erreicht ihr Maximum erst nach 20 Min. mit einem Aktivitätsanteil von 41 %. Das anschließende Absinken ihres Anteils erklärt sich aus dem Verbrauch für die Synthese der Umbelliferose. Diese hat Saccharose bereits nach 60 Min. überholt. Galactinol erreicht nur einen Aktivitätsanteil von 1-2 %. Seine Markierung läuft der der Umbelliferose nicht eindeutig voraus und weist aber schon nach 20 Min. ein kleines Maximum auf. Der Ersatz von $^{14}\text{CO}_2$ durch $^{12}\text{CO}_2$ nach 60 Min. ergibt ein weiteres Abfallen des Saccharoseanteils. Saccharose wird einerseits mit ^{12}C stetig verdünnt, andererseits weiterhin zur Umbelliferosesynthese verbraucht. Da zur Umbelliferosesynthese noch einige Zeit ^{14}C -Saccharose zur Verfügung steht, nimmt der Anteil der Umbelliferose noch zu. Gleichzeitig bedeutet der Anstieg des Anteils von Umbelliferose, daß sie ein Speicherkohlenhydrat darstellt (höhere Homologe sind nicht bekannt), das während der Versuchszeit weiter angereichert wird. Galactinol verändert dagegen seinen Anteil nicht mehr. Es muß daher angenommen

Abb. 17a

Radioautogramm des
Papierchromatogramms
des Blattextraktes
(lösliche Fraktion)
von *Aegopodium podagraria*
nach 5 Min. Photosynthese
in $^{14}\text{CO}_2$



Abb. 17b

Wie Abb. 17a, aber
10 Min. Photosynthese
in $^{14}\text{CO}_2$



Abb. 17c

Wie Abb. 17a, aber
60 Min. Photosynthese
in $^{14}\text{CO}_2$



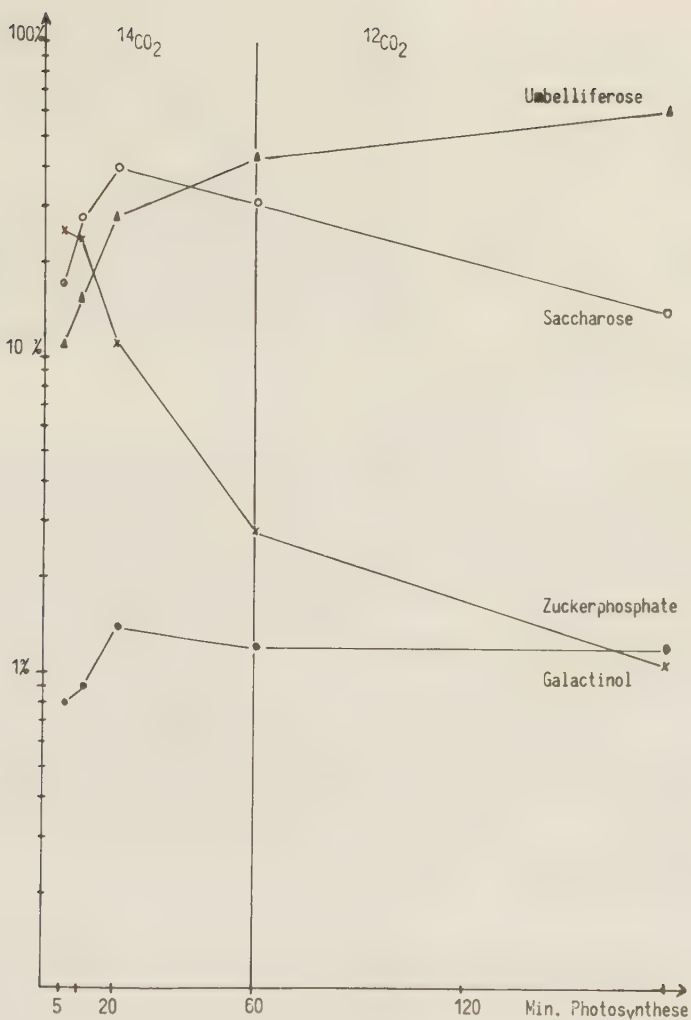


Abb. 18 Prozentualer Anteil verschiedener Kohlenhydrate am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion in Abhängigkeit von der Photosynthesedauer bei *Aegopodium podagraria* am 2.6.71. Nach 60 Min. Photosynthese wurde $^{14}\text{CO}_2$ durch $^{12}\text{CO}_2$ ersetzt.

werden, daß es nicht oder nur wenig umgesetzt wird.

5.1.2. Markierungskinetik bei Carum carvi

In dieser Kinetik wurden Umbelliferose, Galactinol und Raffinose gebildet. Die Abb. 19a-c zeigen die Radioautogramme der löslichen Fraktion von Carum carvi nach 10, 20 und 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ am 25.6.70. Auch hier ist Umbelliferose bereits nach 10 Min. Photosynthese markiert; nach 20 Min. ist auch die Raffinose markiert. Beide Trisaccharide vergrößern noch bis 60 Min. ihren Anteil, werden aber von der Saccharose weit übertroffen. Nach 20 Min. erreicht der Anteil der Markierung von Galactinol ein Maximum; er läuft dem von Umbelliferose und Raffinose voraus. Den genauen Verlauf der Markierungskinetik kann man aus Abb. 20 entnehmen. Sie zeigt gleichzeitig den Verlauf der Kinetik bei Carum carvi am 30.12.70. Diese Kinetik unterscheidet sich von der vom 25.6.70 dadurch, daß weder Raffinose noch Galactinol markiert wurden.

5.1.3. Markierungskinetik bei Laserpitium siler (9.9.69)

In dieser Kinetik wurde Umbelliferose nicht markiert. Wie die Abb. 21 erkennen läßt, verläuft die Kinetik für Saccharose, Galactinol und Raffinose ähnlich wie die von Carum carvi am 25.6.70, wenn man von quantitativen Verschiebungen absieht.

5.2. Intramolekulare Verteilung des ^{14}C in Umbelliferose, Raffinose und Galactinol

Ein weiterer Beitrag zur Biosynthese der Umbelliferose war aus der Verteilung des ^{14}C auf die Monosaccharideinheiten der Umbelliferose zu erwarten.

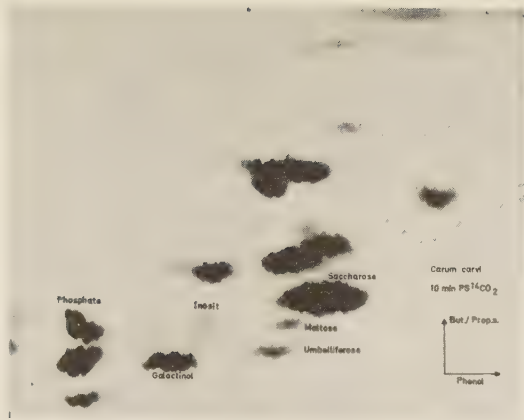


Abb. 19a

Radioautogramm des
Papierchromatogramms
des Blattextraktes
(lösliche Fraktion) von
Carum carvi nach
10 Min. Photosynthese
in $^{14}\text{CO}_2$

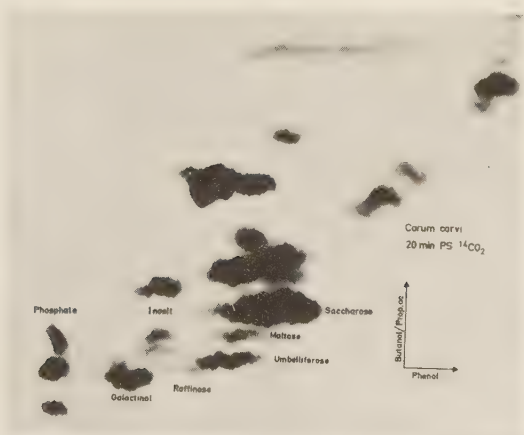


Abb. 19b

Wie Abb. 19a, aber
20 Min. Photosynthese
in $^{14}\text{CO}_2$

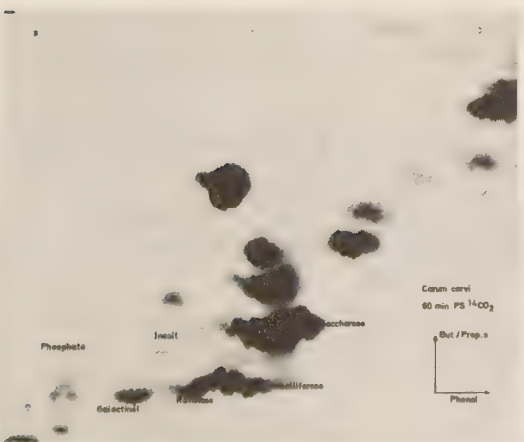


Abb. 19c

Wie Abb. 19a, aber
60 Min. Photosynthese
in $^{14}\text{CO}_2$

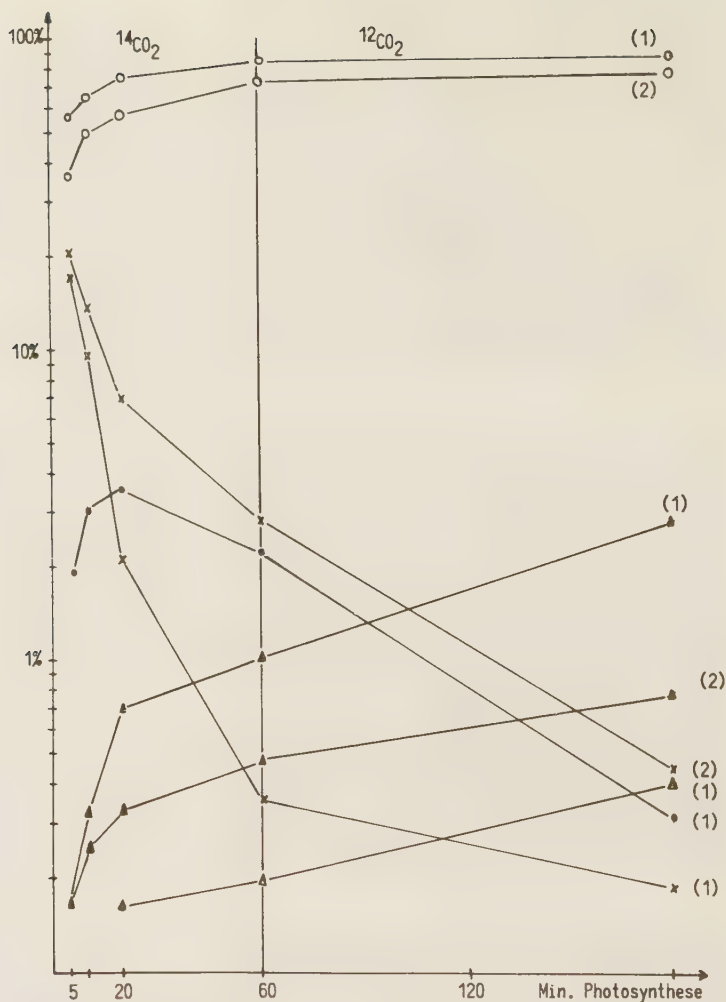


Abb. 20 Prozentualer Anteil verschiedener Kohlenhydrate am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion in Abhängigkeit von der Photosynthesedauer bei *Carum carvi* am 25.6.70 (1) und am 30.12.70 (2). Nach 60 Min. Photosynthese wurde $^{14}\text{CO}_2$ durch $^{12}\text{CO}_2$ ersetzt.

Δ—Δ Raffinose, x—x Zuckerphosphate
 ○—○ Saccharose, ▲—▲ Umbelliferose

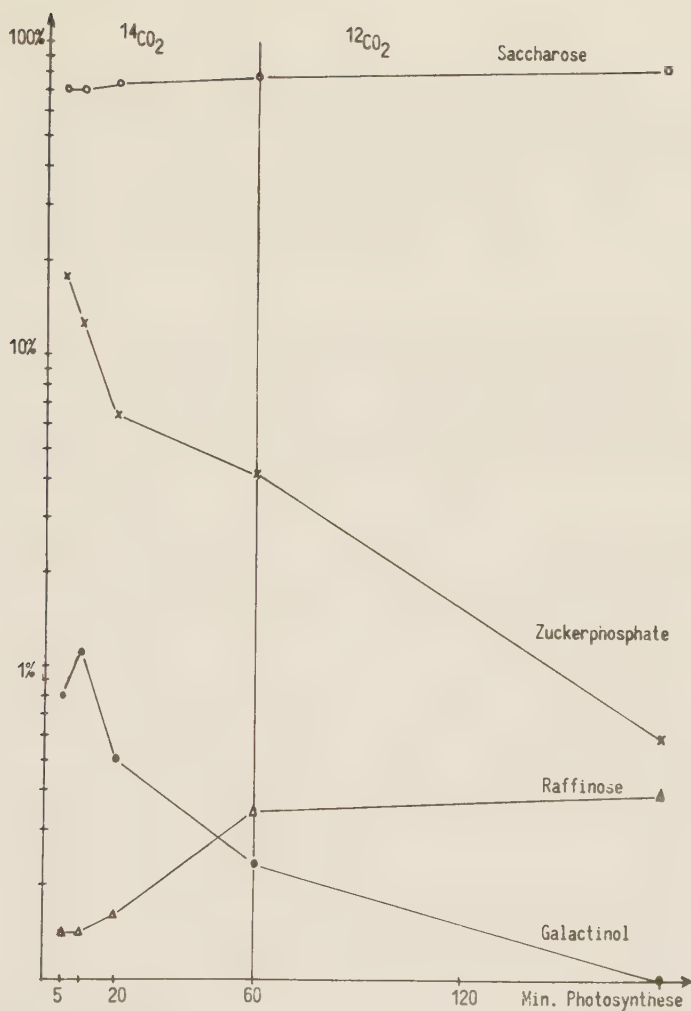


Abb. 21 Prozentualer Anteil verschiedener Kohlenhydrate am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion in Abhängigkeit von der Photosynthesedauer bei *Laserpitium siler* am 9.9.69. Nach 60 Min. Photosynthese wurde $^{14}\text{CO}_2$ durch $^{12}\text{CO}_2$ ersetzt.

5.2.1. Aktivitätsverteilung in der Umbelliferose

Ausgangsmaterial war die aus der $^{14}\text{CO}_2$ -Markierungskinetik von *Aegopodium podagraria* vom 2.6.71 erhaltene radioaktiv markierte Umbelliferose. Die papierchromatographisch gereinigte Umbelliferose wurde mit Invertase inkubiert, um festzustellen, ob gleichzeitig noch chromatographisch nicht abtrennbare Raffinose vorlag. Nach Rechromatographie zeigte sich, daß die Hydrolysenprodukte der Raffinose, nämlich Melibiose und Fructose nicht auftraten. Die Umbelliferose wurde mit α -Galactosidase und Invertase gespalten und nach Chromatographie wurde das ^{14}C -Verhältnis der Hydrolysenprodukte bestimmt.

Wie die Tab. 22 für die Umbelliferose zeigt, dominierte nach kurzen Photosynthesezeiten (5 und 10 Min.) die Markierung in der Galactose des Trisaccharides. Glucose und Fructose des Saccharoseteils waren gleich markiert. Nach 60 Min. Photosynthese war die Galactose der Umbelliferose (30,3 %) noch etwas mehr als doppelt so stark markiert wie der Saccharoseanteil (13 %). Auch nach 60 Min. Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ und anschließend 2 Std. Photosynthese in $^{12}\text{CO}_2$ war noch keine Gleichverteilung erreicht. Während der Galactoseteil an der Aktivität des Gesamtlöslichen nur mehr unwesentlich stieg (von 30,3 % auf 34,5 %) hatte sich der Saccharoseteil um das Doppelte, auf 26,8 % erhöht. Aus diesen Ergebnissen wurde folgender Schluß gezogen:

1. Das Dominieren der Galactose in der Umbelliferose bedeutet, daß Umbelliferose aus Saccharose entsteht, auf die ein Galactosemolekül übertragen wird, das direkt aus der Photosynthese stammt. Der Ersatz von $^{14}\text{CO}_2$ durch $^{12}\text{CO}_2$ ergibt deshalb eine rasche Verdrängung von ^{14}C durch ^{12}C in der Galactose und nur noch einen unwesentlichen Anstieg der Galactose der Umbelliferose.

2. Nach 1 Std. Photosynthese besteht noch eine starke Unausgeglichenheit in der Aktivitätsverteilung zwischen Saccharose und Galactose. Dieser langsame Ausgleich erklärt sich dadurch, daß Umbelliferose während der Versuchszeit nur angereichert, nicht aber weiter umgesetzt wurde.

5.2.2. Aktivitätsverteilung in der Umbelliferose bei gleichzeitiger Raffinosesynthese mit Galactinol

Ausgangsmaterial waren die aus der $^{14}\text{CO}_2$ -Kinetik von *Carum carvi* vom 25.6.70 erhaltenen radioaktiv markierten Umbelliferosen und Raffinosen.

Aus dem Verlauf der Kinetik ging bereits hervor, daß Raffinose zu Umbelliferose im Verhältnis 1:10 gebildet wurde. Wenn man die Tab. 23 der intramolekularen Verteilung des ^{14}C in beiden Zuckern vergleicht, so stellt man fest, daß Raffinose ungleicher markiert ist als Umbelliferose. Dieser langsamere Ausgleich in Raffinose besagt, daß Raffinose weniger umgesetzt wurde als Umbelliferose. Eine Beteiligung der Raffinose an der Biosynthese der Umbelliferose im Sinne folgender Reaktion ist deshalb nicht wahrscheinlich:



Aktivitätsverteilung im Galactinol:

Die Untersuchung der Aktivitätsverteilung auf die Hydrolysenprodukte des Galactinols (Tab. 24) ergab ein Dominieren der Galactose. Dagegen wurde ^{14}C nur sehr langsam in das Inositolmolekül eingebaut. Dieses Ergebnis entspricht dem, das Senger (1967) für Galactinol erhalten hatte.

Tab. 22 Intramolekulare Verteilung des ^{14}C in Umbelliferose aus Blättern von *Aegopodium podagraria* in Abhängigkeit von der Photosynthesedauer am 2.6.1971. Angaben in (1) = % Anteil am Gesamtmolekül und (2) = % Anteil am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion.

Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$	Galactose		Glucose		Fructose	
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
5 Min.	83,1	8,8	8,2	0,9	8,7	0,9
10 Min.	70,6	11,0	14,7	2,3	14,7	2,3
20 Min.	69,8	19,7	15,3	4,3	14,9	4,2
60 Min.	69,9	30,3	15,5	6,7	14,6	6,3
60 Min. + 120 Min. $^{12}\text{CO}_2$	56,3	34,5	21,9	13,5	21,8	13,4

Tab. 23 Intramolekulare Verteilung des ^{14}C in Umbelliferose und Raffinose aus Blättern von *Carum carvi* in Abhängigkeit von der Photosynthesedauer am 25.6.1970. Angaben in (1) = % Anteil am Gesamtmolekül und (2) = % Anteil am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion

Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$	Galactose		Glucose		Fructose	
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
<u>Umbelliferose</u>						
60 Min.	61,6	0,7	19,2	0,2	19,2	0,2
60 Min. + 120 Min. $^{12}\text{CO}_2$	43,6	1,2	28,2	0,82	28,2	0,8
<u>Raffinose</u>						
60 Min.	79,2	0,15	10,4	0,02	10,4	0,02
60 Min. + 120 Min. $^{12}\text{CO}_2$	50,8	0,15	24,6	0,07	24,6	0,07

Tab. 24 Intramolekulare Verteilung des ^{14}C in Galactinol aus Blättern von *Carum carvi* in Abhängigkeit von der Photosynthesedauer am 25.6.1970. Angabe in (1) = % Anteil am Gesamtmolekül und (2) = % Anteil am ^{14}C -Gehalt der löslichen Fraktion.

Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$	Galactose		Inosit	
	(1)	(2)	(1)	(2)
5 Min.	98,5	1,91	1,5	0,03
10 Min.	98,1	3,05	1,9	0,06
20 Min.	97,9	3,53	2,1	0,08
60 Min.	97,9	2,18	2,1	0,03
60 Min. + 120 Min. $^{12}\text{CO}_2$	97,6	0,30	2,4	0,01

5.3. Hinweise auf die Biosynthese der Umbelliferose durch Fütterung von U- ^{14}C -Kohlenhydraten

Die Bildungskinetiken der Umbelliferose ergaben, daß die Biosynthese der Umbelliferose durch Bindung einer Galactose an Saccharose erfolgt. Unklar blieb dabei, ob die zur Synthese notwendige Galactose in Form von Galactosephosphat, UDP-Galactose oder Galactinol vorliegen mußte. Hoffmann et al. (1971) erhielten nach Fütterung von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Galactose an Blätter von *Lamium album* u.a. als markierte Verbindungen: UDP-Galactose, Galactinol, Saccharose und Raffinose. Durch Fütterung von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Galactose war es also möglich Verbindungen markiert zu erhalten, die bei der Raffinosesynthese beteiligt sind.

Wir gingen nun von der Annahme aus, daß bei Fütterung der aktivierten Galactose, die die Pflanze zur Biosynthese der Umbelliferose verwendet, ein bevorzugter Einbau in die Galactose der Umbelliferose stattfinden müßte.

Fütterungsversuche wurden an Pflanzenteile von Umbelliferen durchgeführt, von denen bekannt war, daß sie viel Umbelliferose, jedoch keine Raffinose synthetisierten. An Blätter von *Aegopodium podagraria* (19.6.71), an Endosperm von *Carum carvi* (5.7.72) und an Keimlinge von *Carum carvi* (8.11.72) wurden jeweils wässrige Lösungen von U- ^{14}C -Kohlenhydraten (Galactose, UDP-Galactose, Galactinol, Glucose, Fructose und Saccharose) 4 Std. lang verfüttert. Anschließend wurden die Pflanzenteile extrahiert und chromatographisch analysiert.

5.3.1. Ergebnisse der chromatographischen Analyse

Wie die Tab. 25 zeigt, wurde unabhängig vom gefütterten Kohlenhydrat (mit Ausnahme bei *Carum*, Endosperm) neben anderen Verbindungen markierte Umbelliferose gebildet. Die intramolekulare Verteilung des ^{14}C in der Umbelliferose der einzelnen Fütterungen ergab in Übereinstimmung mit den Photosyntheserversuchen in $^{14}\text{CO}_2$, daß eine Galactose an Saccharose gebunden wird, die stets dominierend markiert ist. Von den gefütterten Kohlenhydraten wurde jedoch keines bevorzugt in die Galactose der Umbelliferose eingebaut.

Von den möglichen Galactosedonatoren ist jedoch Galactinol sehr wahrscheinlich an der Biosynthese der Umbelliferose nicht beteiligt, da es bei keiner der Fütterungen markiert wurde. Daß man bei Fütterung von Galactinol trotzdem markierte

Tab. 25 Intramolekulare Verteilung des ^{14}C in Umbelliferose nach Fütterung
verschiedener U- ^{14}C -Kohlenhydraten (- = nicht ^{14}C -markiert)

Gefütterte Verb.	Pflanze	Galactose	Glucose	Fructose
^{14}C -Glucose	Carum, Endosperm Carum, Keimlinge	95,0 92,7	4,4 4,1	0,6 3,2
^{14}C -Fructose	Carum, Endosperm Carum, Keimlinge	86,3 88,2	6,1 5,5	7,6 6,3
^{14}C -Saccharose	Carum, Endosperm Carum, Keimlinge	44,2 50,6	27,2 25,2	28,6 24,2
^{14}C -Galactose	Aegopodium, Blatt Carum, Endosperm Carum, Keimlinge	72,0 94,7 89,2	17,0 4,0 5,4	11,0 1,3 5,4
^{14}C -UDP-Galactose	Aegopodium, Blatt Carum, Endosperm Carum, Keimlinge	77,0 86,2 90,2	13,7 12,8 4,9	9,3 1,0 4,9
^{14}C -Galactinol	Aegopodium, Blatt Carum, Endosperm Carum, Keimlinge	77,5 - 94,0	11,5 - 3,5	11,0 - 2,5

Umbelliferose erhält, dürfte darauf zurückzuführen sein, daß Galactinol von einer α -Galactosidase gespalten und die entstehende Galactose in den Stoffwechsel einbezogen worden ist.

Der im Vergleich zu den anderen Fütterungen niedrige Markierungsanteil in der Galactose der Umbelliferose bei Fütterung von Saccharose beruht wahrscheinlich darauf, daß die Saccharose einerseits direkt in den Stoffwechsel gelangt, andererseits aber von Invertase gespalten und damit zum Lieferanten des Galactosylrestes der Umbelliferose wird.

5.3.2. Diskussion der Ergebnisse der Fütterungsversuche

Die Fütterungen zeigten einerseits, daß eine Beteiligung von Galactinol an der Biosynthese der Umbelliferose wenig wahrscheinlich ist, gaben aber andererseits auch keinen Hinweis auf einen anderen Galactosedonator. Wie Hassid et al. (1959) zeigen konnten, werden die von der Pflanze aufgenommenen Monosaccharide nach Phosphorylierung zu Zuckerphosphaten in den Stoffwechsel eingeschleust. Die Interkonversion zwischen Zuckerphosphaten und -nukleotiden verläuft bei den geringen Pools jedoch sehr schnell. So erhält man z.B. keinen signifikanten Unterschied im Einbau in die Galactose der Umbelliferose, ob man nun Galactose, UDP-Galactose oder ein anderes Monosaccharid füttert. Daraus wurde der Schluß gezogen, daß auf diesem Weg der Galactosedonator, der von der Pflanze zur Biosynthese der Umbelli-

ferose verwendet wird, nicht ermittelt werden kann. Eine zusammenfassende Darstellung über die Aufnahme und Verwertung gefütterter Kohlenhydrate gibt die Abb. 22.

5.4. Diskussion der Biosynthese der Umbelliferose

Das Auftreten von Galactinol in der Bildungskinetik gab Anlaß zu der Frage, ob bei der Biosynthese der Umbelliferose der Galactosylrest des Galactinols auf Saccharose übertragen werden kann.



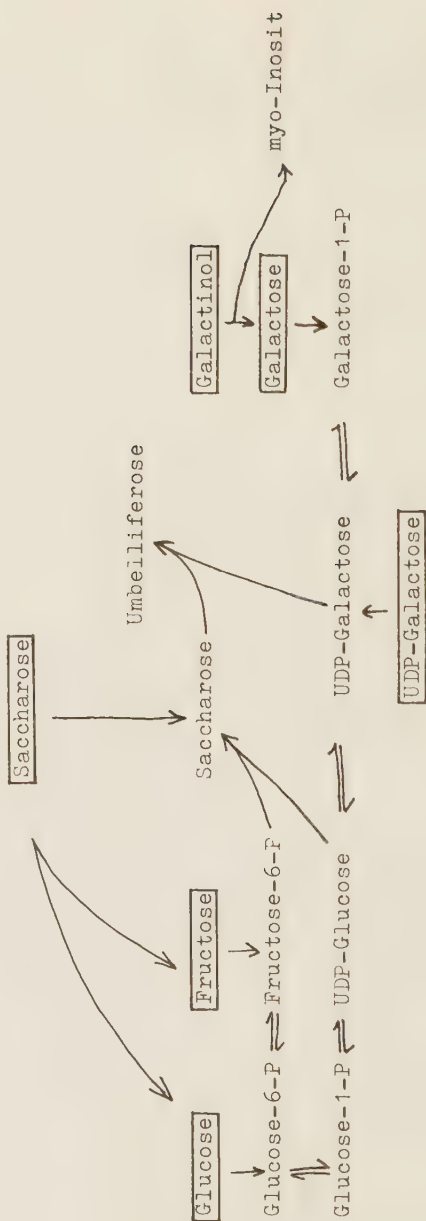
Die Biosynthese der Umbelliferose würde dann analog zur Biosynthese der Raffinose verlaufen, die Senser und Kandler (1967), sowie Lehle und Tanner (1972) beschrieben:



Die Gleichung (2) wurde von Senser und Kandler (1967) aufgrund folgender Ergebnisse aufgestellt:

1. In allen Blättern, in denen Raffinose vorkam, war auch Galactinol nachzuweisen (mehr als 0,2 mg/g Fgw.).
2. Bei Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ ist der Pool an Galactinol sehr viel früher an ^{14}C gesättigt als der der Raffinose.
3. Bei Nachbehandlung mit $^{12}\text{CO}_2$ nach vorheriger Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ nimmt der prozentuale Anteil der Aktivität in Raffinose weiter zu, während er in Galactinol rasch abnimmt. Galactinol zeigt somit einen Umsatz.
4. Nach kurzen Photosynthesezeiten findet sich die höchste spezifische Aktivität in der Galactose der Raffinose. Galactinol selbst ist anfangs fast ausschließlich im Galactoseteil markiert.

Abb. 22 Interkonversion gefütterter Kohlenhydrate in Pflanzenteilen von *Carum carvi* und *Aegopodium podagraria*. Die gefütterten Kohlenhydrate sind eingerahmt. Angewandelt nach Hassid (1959).



Die Untersuchungen zur Biosynthese der Umbelliferose brachten folgende wesentliche Unterschiede:

1. In den Blättern, in denen Galactinol und Raffinose bei Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ markiert vorkamen, waren die Mengen so gering, daß sie quantitativ nicht bestimmt werden konnten.
2. Bei der Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ ist der Pool an Galactinol mit Ausnahme bei *Carum carvi* (25.6.70) nicht früher an ^{14}C -gesättigt als der der Umbelliferose, jedoch stets früher als der der Raffinose.
3. Bei Nachbehandlung mit $^{12}\text{CO}_2$ nach vorheriger Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ nimmt der prozentuale Anteil der Aktivität in Umbelliferose zu, während er aber im Galactinol nicht abnimmt. Galactinol zeigt nur dann einen Umsatz, wenn neben Umbelliferose auch Raffinose gebildet wird.

Aufgrund dieser Unterschiede ist eine Beteiligung des Galactinols an der Biosynthese der Umbelliferose nicht wahrscheinlich. Vielmehr dürfte Galactinol nur die Funktion eines Galactosyldonors bei der Biosynthese der Raffinose haben.

6. Die Biosynthese der Umbelliferose in vitro

6.1. Bildung der Umbelliferose in Extrakten aus Blättern von Aegopodium podagraria

Zum Auffinden des Umbelliferose-synthetisierenden Enzyms wurden folgende mögliche Reaktionen mit einer Enzympräparation aus Blättern von Aegopodium podagraria getestet:

Synthesereaktionen

- (1) Galactinol + ^{14}C -Saccharose $\rightleftharpoons$ ^{14}C -Umbelliferose + myo-Inosit
- (2a) UDP-Galactose + ^{14}C -Saccharose $\rightleftharpoons$ ^{14}C -Umbelliferose + UDP
- (2b) UDP-Galactose- ^{14}C + Saccharose $\rightleftharpoons$ ^{14}C -Umbelliferose + UDP
- (3) Galactose-1-Phosphat + ^{14}C -Saccharose $\rightleftharpoons$ ^{14}C -Umbelliferose + Phosphat

Austauschreaktionen

- (4) Umbelliferose + ^{14}C -Saccharose $\rightleftharpoons$ ^{14}C -Umbelliferose + Saccharose
- (5) Raffinose + ^{14}C -Saccharose $\rightleftharpoons$ ^{14}C -Umbelliferose + Saccharose

Nur in Test 2a und 2b konnte eine neue radioaktive Verbindung synthetisiert werden, welche papierchromatographisch mit Umbelliferose identisch war. In der Kontrolle, d.h. bei der Abwesenheit von UDP-Galactose, wurde keine Umbelliferose gebildet.

6.2. Identifizierung der Umbelliferose

Die bei Reaktion 2a und 2b entstandene ^{14}C -Verbindung wurde eluiert und in den Lösungsmitteln 1-4 eindimensional,

sowie in den Systemen I - IV zweidimensional mit authentischer Umbelliferose cochromatographiert. Zusätzlich wurden Coelektrophoresen in Ammoniumformiat und Borat durchgeführt. In allen Fällen war eine vollständige Übereinstimmung festzustellen. Die in Reaktion 2a erhaltene ^{14}C -Verbindung erwies sich als Invertase-stabil. Nach enzymatischer Spaltung mit α -Galactosidase wurde als einzige radioaktive Verbindung ^{14}C -Saccharose erhalten. Die in Reaktion 2b erhaltene ^{14}C -Verbindung erwies sich ebenfalls als Invertase-stabil. Nach enzymatischer Spaltung mit α -Galactosidase wurde als einzige radioaktive Verbindung ^{14}C -Galactose erhalten. Die Identifizierung der Umbelliferose dürfte damit gesichert sein.

6.3. Kinetik der Umbelliferosebildung

Die Abhängigkeit der Umbelliferose-Synthese-Reaktion von der Zeit zeigen die Abb. 23a und 23b. Aus ihnen geht hervor, daß keine lineare Beziehung zwischen der Umbelliferose-Synthese und der Inkubationszeit besteht. Dies beruht darauf, daß die Enzympräparation eine sehr aktive UDP-Galactose-4-Epimerase enthält. Bereits nach 1 Std. stellt sich ein Gleichgewicht von UDP-Galactose zu UDP-Glucose von 0,3 ein (Abb. 23a). Zusätzlich wird UDP-Glucose, im Gegensatz zu UDP-Galactose, hydrolysiert. Dabei dürfte Glucose-1-Phosphat entstehen, das enzymatisch weiter umgewandelt wird. Als Folge davon konnten als ^{14}C -markierte Verbindungen (angegeben als Rest in Abb. 23a) gefunden werden: Zuckerphosphate, Glucose, Fructose, Saccharose, aber nur wenig Galactose. Durch diese Umsätze wird die Konzentration an UDP-Galactose rasch so weit vermindert, daß sie den limitierenden Faktor bei der Synthesereaktion darstellt.

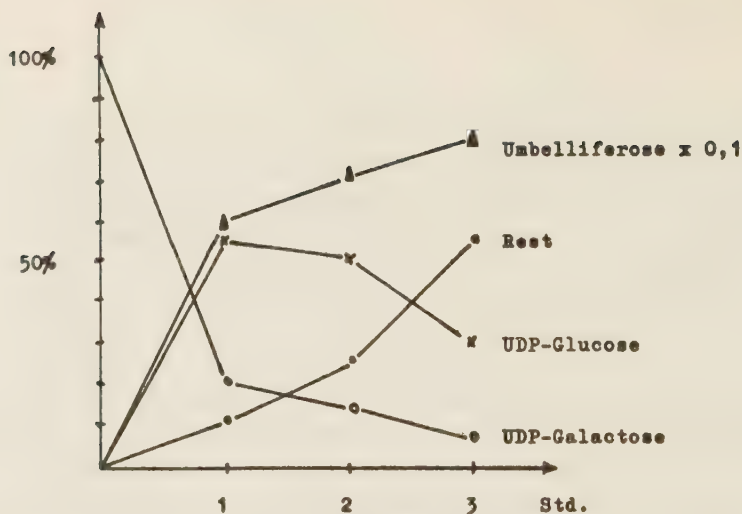


Abb. 23a Abhängigkeit der Umbelliferose-Synthese-Reaktion von der Zeit. Testansatz: 1 μCi UDP-Galactose- ^{14}C (0,003 μMol), 1 μMol UDP-Galactose- ^{12}C , 1 μMol Saccharose und Enzym. Ordinate: Prozent Gesamtaktivität.

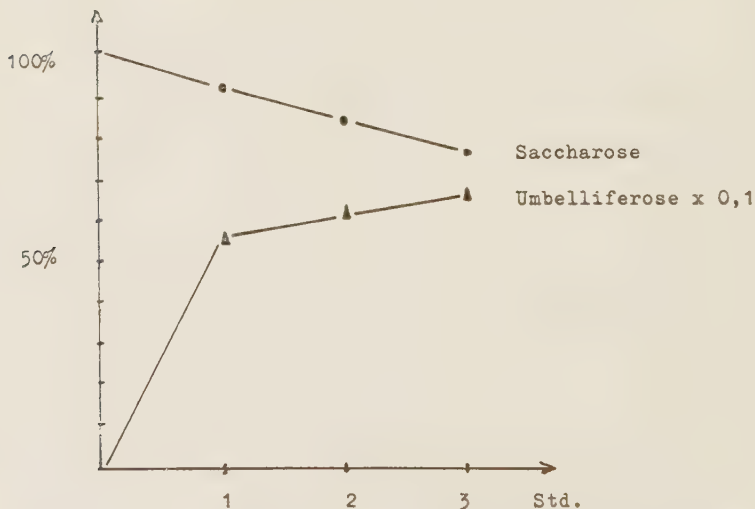


Abb. 23b Abhängigkeit der Umbelliferose-Synthese-Reaktion von der Zeit. Testansatz: 5 μCi ^{14}C -Saccharose (0,08 μMol), 1 μMol ^{12}C -Saccharose, 1 μMol UDP-Galactose und Enzym. Ordinate: Prozent Gesamtaktivität

6.4. Acceptorspezifität des Enzyms

In dem Testansatz für die Umbelliferose-Synthese wurde Saccharose durch folgende 9 Zucker ersetzt: Galactose, Glucose, Melibiose, Lactose, Maltose, Cellobiose, Trehalose, Raffinose und Umbelliferose. Nach 1 Std. Inkubation zeigte sich, daß keine Galactoseübertragung von UDP-Galactose auf diese Zucker möglich ist. Die Versuche zeigen damit eine große Spezifität der Galactoseübertragung auf Saccharose. Das Enzym sollte daher als UDP-Galactose:Saccharose 2-Galactosyltransferase bezeichnet werden.

6.5. pH-Abhängigkeit der Umbelliferose-Synthese-Reaktion und verschiedener Hydrolasen

Zur vergleichenden Prüfung der pH-Abhängigkeit der UDP-Galactose:Saccharose 2-Galactosyltransferase, der α -Galactosidase und der Invertase wurde wegen des größeren pH-Bereiches an Stelle von 0,1 M Tris-HCl-Puffer 0,1 M Phosphatpuffer verwendet. Die Inkubationszeit betrug 2 Std.

Wie die Abb. 24 zeigt, hat die Transferase einen optimalen Wirkungsbereich um pH 7,5. Das pH-Optimum der α -Galactosidase, die die 1-1 Bindung in der Umbelliferose spaltet, liegt um pH 5,5. Die α -Galactosidase, die die 1-6 Bindung in der Raffinose spaltet, weist das gleiche pH-Optimum auf, hat aber einen breiteren Wirkungsbereich im Alkalischen. In der gleichen Enzympräparation ist auch eine α -Galactosidase vorhanden, die die 1-1 Bindung im Galactinol spaltet. Die Invertase ist über einen weiten pH-Bereich aktiv. Ihr pH-Optimum dürfte, wie bei Invertasen generell festgestellt, unter pH 5,0 liegen.

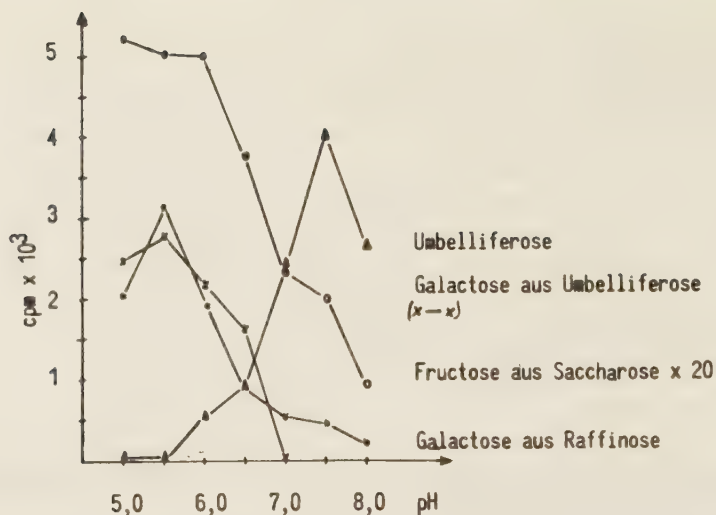


Abb. 24 pH-Abhängigkeit der Umbelliferose-Synthese-Reaktion, der α -Galactosidase und der Invertase. Testansätze: Umbelliferose-Synthese-Reaktion: 0,25 μ Ci UDP-Galactose- ^{14}C , 1 μ Mol UDP-Galactose- ^{12}C , 1 μ Mol Saccharose α -Galactosidaseaktivität: 0,1 μ Ci U- ^{14}C Umbelliferose bzw. Raffinose. Invertaseaktivität: 1 μ Ci Saccharose

6.6. Stabilität des Enzyms

Im eingefrorenen Zustand (-20°C) konnte nach einem Monat noch kein Aktivitätsabfall des Enzyms festgestellt werden.

6.7. Umbelliferosesynthese in Extrakten aus Früchten und Keimlingen von *Carum carvi*

Mit Enzympräparationen aus reifen Früchten und Keimlingen von *Carum carvi* konnte bisher eine in vitro Synthese der

Umbelliferose nicht erzielt werden. Der Grund hierfür dürfte wiederum bei der UDP-Galactose-4-Epimerase zu suchen sein. In beiden Fällen wurde nach 1 Std. Inkubation ein Verhältnis von UDP-Galactose/UDP-Glucose gemessen, das kleiner als 0,1 war. Das bedeutet, daß während dieser Zeit UDP-Galactose fast quantitativ in UDP-Glucose umgewandelt wurde und damit einer möglichen Umbelliferose-Synthesereaktion der Galactosyldonor fehlte.

6.8. Diskussion

Der Nachweis, daß Galactinol bei Umbelliferen vorkommt, gab zunächst Anlaß zu der Vorstellung, daß die Biosynthese der Umbelliferose durch die Übertragung einer Galactose von Galactinol auf Saccharose erfolgen könnte, ähnlich wie Lehle (1970, 1972) sie bei der Biosynthese der Raffinose nachweisen konnte. Diese Vorstellung konnte aber nach den in 5.4. bereits ausführlich dargelegten in vivo Befunden nicht aufrecht erhalten werden. Die in vitro Ergebnisse sprechen dafür, daß Galactinol bei der Biosynthese der Umbelliferose keine Funktion hat. Da Galactinol meist gleichzeitig mit Raffinose in Umbelliferen nachgewiesen werden konnte, hat Galactinol möglicherweise die Funktion eines Galactosyldonors bei der Biosynthese der Raffinose, wie sie Lehle (1970) beschrieben hat.

Weiterhin wird aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit sichtbar, daß die UDP-Galactose:Saccharose 2-Galactosyltransferase nicht mit einer α -Galactosidase identisch ist. Dies kommt einmal dadurch zum Ausdruck, daß das pH-Optimum für die Transferase bei pH 7,5, das der α -Galactosidase aber bei pH 5,5 liegt. Zum anderen schließt die hohe Acceptorspezifität der Transferase die Beteiligung von recht unspezifisch wirkenden α -Galactosidasen aus.

Während von den 9 getesteten Zuckern nur Saccharose als Acceptor fungierte, transgalactosidieren α -Galactosidasen auf eine Vielzahl von Acceptoren (Dey und Fridham, 1973).

Die methodische Durchführung der Versuche zum Nachweis der UDP-Galactose:Saccharose 2-Galactosyltransferase orientierte sich an den Arbeiten von Lehle et al. (1970, 1972) und Ortmann et al. (1970). Trotzdem gelang es lange Zeit nicht eine aktive Transferase herzustellen. Hierfür sind drei Gründe ausschlaggebend:

1. Im Rohextrakt führen die Inhaltsstoffe der Umbelliferen (Aromastoffe, phenolische Verbindungen, Saponine etc.) zu einer raschen Inaktivierung der Enzyme. Dies kann nur durch Zusatz von unlöslichem Polyvinylpyrrolidon (Loomis, 1966) bei der Extraktion und durch sofortiges Abtrennen des Substrates nach der Ammoniumsulfatfällung über Sephadex G 25 verhindert werden.
2. Als ein weiteres entscheidendes Kriterium für das Auffinden der Transferase hat sich deren starke Abhängigkeit vom Sulfhydrylschutzmittel Dithioerythrit (Clelands Reagenz) erwiesen. Bisher konnte eine aktive Transferase nur unter Verwendung von 0,01 M Dithioerythrit gewonnen werden, während Mercaptoäthanol wirkungslos war.
3. Die Enzympräparationen von *Carum carvi* und *Aegopodium podagraria* enthalten eine sehr aktive UDP-Galactose-4-Epimerase, die der Umbelliferose-Synthese-Reaktion den Galactosyldonor entzieht.

Die in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisse über die UDP-Galactose:Saccharose 2-Galactosyltransferase sind wegen des gleichzeitigen Vorhandenseins der UDP-Galactose-4-Epimerase unvollständig. Ihre genaue Charakterisierung wird erst möglich sein, wenn eine Abtrennung der UDP-Galactose-4-Epimerase gelungen ist.

IV. Zusammenfassung

1. Umbelliferose wurde aus reifen Früchten von *Carum carvi* isoliert und identifiziert. Dabei wurden drei, bei den Umbelliferen neue, Oligosaccharide gefunden: Trehalose, Glucosylmannose und Mannitglucosid. Die Reservezellulose des Endosperm konnte als Mannan charakterisiert werden.
2. Umbelliferose und Mannan konnten in allen untersuchten Umbelliferen (35 Genera aus den drei Unterfamilien) und bei den Araliaceen, jedoch nicht bei den Cornales nachgewiesen werden. Das Vorkommen von Umbelliferose und Mannan bei den Araliaceen bestätigt die phytochemisch enge Verwandtschaft der Araliaceen mit den Umbelliferen. Dagegen unterstreicht das Fehlen dieser Kohlenhydrate bei den Cornales deren geringe phytochemische Ähnlichkeit mit den Umbelliferen.
3. Umbelliferose kann in größerer Menge in Blättern und Wurzeln, bzw. Rhizomen von zwei- und mehrjährigen Umbelliferen vorkommen. Sie wird dabei neben Saccharose aus den Blättern abgeleitet und dient wahrscheinlich als Speicheroligosaccharid. In einjährigen Umbelliferen kommt Umbelliferose nur in geringen Mengen vor.

4. Die Umbelliferen enthalten in ihren vegetativen Pflanzenteilen neben Umbelliferose sehr geringe Mengen an Raffinose. Die Umbelliferose ist jedoch die Hauptkomponente im Galactosidstoffwechsel der Umbelliferen.
5. Während Blüten von Umbelliferen keine Umbelliferose enthalten, wird sie in reifenden Früchten während den späteren Stadien zusammen mit Trehalose und mit dem Reservepolysaccharid Mannan gebildet. Im Gegensatz zur Trehalose, die im Endstadium der Reifung wieder weitgehend verbraucht wird, werden Umbelliferose und Saccharose im Endosperm angehäuft. Glucosylmannose und Mannitglucosid sind in reifen Früchten nur in geringer Menge nachweisbar. Während der Keimung werden die Oligosaccharide und das Mannan abgebaut.
6. Die Trehalose-haltigen Früchte enthalten auch Trehalase-Aktivität; sie konnte auch noch in Keimlingen festgestellt werden. Möglicherweise spielt ein Trehalose-Trehalase-System eine Rolle beim Glucosetransport während der Reifung und Keimung.
7. Nach Photosynthese von Blättern in $^{14}\text{CO}_2$ konnte neben markierter Umbelliferose auch wenig markiertes Galactinol und Raffinose nachgewiesen werden. Die Markierungskinetik mit ^{14}C zeigte, daß Umbelliferose ähnlich wie Raffinose durch Übertragung einer Galactose auf Saccharose gebildet wird. Obwohl Galactinol ebenfalls relativ früh markiert wurde, spricht sein geringer Umsatz wie auch die Ergebnisse der Fütterungen von ^{14}C -Kohlenhydraten gegen eine Beteiligung an der Biosynthese der Umbelliferose.

8. In Enzympräparationen aus Blättern von *Aegopodium podagraria* konnte eine UDP-Galactose:Saccharose 2-Galactosyltransferase nachgewiesen werden. Sie synthetisiert Umbelliferose aus Saccharose und UDP-Galactose. Die Transferase hat eine sehr hohe Acceptorspezifität und unterscheidet sich eindeutig von den Galactosidasen durch ein um zwei Einheiten verschiedenes pH-Optimum.
9. Mit einer Enzympräparation aus Keimlingen von *Carum carvi* konnte Mannan zu Glucose abgebaut werden; in der gleichen Enzympräparation wurde die Umwandlung von freier Mannose in Glucose festgestellt. Diese Ergebnisse sprechen für das Vorliegen einer Mannose-2-Epimerase.

V. Literaturverzeichnis

1. In der Arbeit zitierte Literatur

- Alm, R.S., Williams, R.J.P., Tiselius, A.: Gradient Elution Analysis. Acta Chem. Scand. 6, pp. 826-836 (1952)
- Bailey, R.W.: Colour Reactions between Sugars and Diphenylamine-Urea and Diphenylamine-p-Anisidine on Paper Chromatograms. J. Chromatogr. 8, pp. 57-62 (1962)
- Behrens, N.H., Cabib, E.: The Biosynthesis of Lannan in *Saccharomyces Carlsbergensis*. J. Biolog. Chem. 243, pp. 502-509 (1968)
- Bergmeyer, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse Bd. 1,2 Weinheim/Bergstr. (1972)
- Bourne, E.J., Walter, E.W., Pridham J.B.: The Biosynthesis of Raffinose. Biochem. J. 97, pp. 802-806 (1965)
- Cleland, W.W.: Dithiothreitol, a New Protective Reagent for SH-Groups. Biochemistry 3, pp. 480-482 (1964)
- Clotten, R., Clotten, A.: Hochspannungselektrophorese, Thieme-Verlag 1962

- Consden, R., Stanier, W.M.: Ionophoresis of Sugars on Paper and Some Applications to the Analysis of Protein Polysaccharid Complexes. *Nature* (London), 169, pp. 783-785 (1952)
- Courtois, J.E., Petek, F.: α -Galactosidase from Coffee Beans. In: *Methods in Enzymology*, Vol. 8, pp. 565-570 (1966)
- Cronquist, A.: *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. Boston 1968
- Crowden, R.K., Harborne, J.B., Heywood, V.H.: Chemo-systematics of the Umbelliferae - a General Survey. *Phytochemistry*, Vol. 8, pp. 1963-1984 (1969)
- Dey, P.M., Pridham, J.B.: Biochemistry of α -Galactosidases. *Advances in Enzymology*, Vol. 36, pp. 91-130 (1972)
- Engler, A.: *Syllabus der Pflanzenfamilien Band 2*, Berlin 1964
- Glasziou, K.T., Gayler, K.R.: Sugar Transport: Occurrence of Trehalase Activity in Sugar Cane. *Planta*, 85, pp. 299-302 (1969)
- Griesbach, H., Ortmann, R.: UDP-Apiosyltransferase from Parsley. In: *Methods in Enzymology*, Vol. 18, pp. 473-478 (1972)
- Gussin, A.E.S., McCormack, J.H., Yih-Lo Waung, L., Gluckin, D.S.: Trehalase: A New Pollen Enzyme. *Plant Physiol.* 44, pp. 1163-1168 (1969)
- Gussin, A.E.S.: Does Trehalose Occur in Angiospermae? *Phytochemistry*, Vol. 11, pp. 1827-1828 (1972)
- Gussin, A.E.S., McCormack, J.H.: Trehalase and the Enzymes of Trehalose Biosynthesis in *Lilium longiflorum* Pollen. *Phytochemistry*, Vol. 9, pp. 1915-1920 (1970)

- Harborne, J.B.: Biochemical Systematics. The Use of Chemistry in Plant Classification. In: Progress in Phytochemistry, Vol. 1, pp. 545-589 (1968)
- Hassid, W.Z., Neufeld, E.F., Feingold, D.S.: Sugar Nucleotides in the Interconversions of Carbohydrates in Higher Plants. Proceed. Nat. Acad. Science, USA, Vol. 45, No. 7, pp. 905-915 (1959)
- Hegnauer, R.: Chemotaxonomie der Pflanzen Bd. 3, Angiospermen A-C, Stuttgart 1964, Bd. 4, Angiospermen D-L, Stuttgart 1966, Bd. 5, Angiospermen L-Q, Stuttgart 1969
- Hegnauer, R.: Chemical Patterns and Relationships of the Umbelliferae. In: Biology and Chemistry of the Umbelliferae, edit. V.H. Heywood, Suppl. 1 to the Bot. Journ. of the Linnean Society, Vol 64, pp. 267-277 (1972)
- Heywood, V.H.: Biology and Chemistry of the Umbelliferae. Suppl. 1 to the Bot. Journ. of the Linnean Society, Vol. 64 (1972)
- Hiller, K.: Oligosaccharide in Bryngiumarten Z. Naturf., 24b, p. 36-38 (1969)
- Hiller, K.: Chemosystematics of the Saniculoideae. In: Biology and Chemistry of the Umbelliferae, edit. V.H. Heywood, Suppl. 1 to the Bot. Journ. of the Linnean Society, Vol. 64, pp. 369-384 (1972)
- Hiller, K., Kothe, N.: Über die Saccharide in Astrantia maior L. Planta Med. 17, pp. 79-86 (1969)
- Hoffmann, F., Kull, U., Jeremias, K.: Parkierung von Kohlenhydraten in Blättern nach Fütterung von ^{14}C -Galactose. Z. Pflanzenphysiol. Bd. 64, pp. 223-231 (1971)

- Jeremias, K.: Zur winterlichen Zuckeranhäufung in vegetativen Pflanzenteilen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. H. 1/2, pp. 87-97 (1969)
- Jones, J.K.N., Wall, R.A., Pittet, A.O.: The Separation of Sugars on Ion-Exchange Resins Part I. Separation of Oligosaccharides. Canad. Journ. of Chemistry, Vol. 38, No. 12, pp. 2285-2289 (1960)
- Kandler, O.: Möglichkeiten zur Verwendung von ^{14}C für chemotaxonomische Untersuchungen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 77, pp. 62-73 (1964).
- Keen, T.N., Williams, P.H.: Translocation of Sugars into Infected Cabbage Tissues During Clubroot Development. Plant. Physiol. 44, pp. 748-754 (1969)
- Kull, U., Hentschel, G.: Markierung von Kohlenhydraten in Blättern Sedoheptulose führender Arten nach Fütterung von ^{14}C -Glucose. Z. Pflanzenphysiol. Bd. 60, pp. 38-45 (1968)
- Lee, Y.C.: α -Mannosidase, β -Glucosidase and β -Galactosidase from Sweet Almond Emulsin. In: Methods in Enzymology, Vol. 28, pp. 699-702 (1972)
- Lehle, L., Tanner, W., Kandler, O.: Myo-inositol, a Cofactor in the Biosynthesis of Raffinose. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. Bd. 351, pp. 1494-1498 (1970)
- Lehle, L.: Die Funktion des myo-Inosits in der Biosynthese der Raffinose. Diss. Univers. München (1972)
- Lehle, L., Tanner, W.: Synthesis of Raffinose-Type Sugars In: Methods in Enzymology, Vol. 18, pp. 1494-1498 (1972)
- Liu, C., Patterson, B.W., Lapp, D., Elbein, A.D.: Trehalose-Phosphate-Synthesis from UDP-Glucose or GDP-Glucose. Journ. Biol. Chem. Vol. 244, No. 13, pp. 3728-3731 (1969)

- Loomis, W.D., Battaile, J.: Plant Phenolic Compounds and the Isolation of Plant Enzymes. *Phytochemistry*, Vol. 5, pp. 423-438 (1966)
- Oesch, F., Meier, H.: Trehalose in the Cambial Sap of *Fagus silvatica* L. *Phytochemistry*, 6, pp. 1147-1148 (1967)
- Ortmann, R., Sandermann, H., Grisebach, H.: Transfer of Apiose from UDP-Apiose to 7-O-(β -D-Glucosyl)-Apigenin and 7-O-(β -D-Glucosyl)-Chrysoeriol with an Enzyme Preparation from Parsley. *Febs Letters*, Vol. 7, No. 2, pp. 164-166 (1970)
- Pridham, J.B., Massid, W.Z.: Biosynthesis of Raffinose. *Plant Physiol.* 40, pp. 984-986 (1965)
- Porath, J.: Use of Triethylammonium Buffers in Ion-Exchange Chromatography and Electrophoresis. *Nature* 175, 478 (1955)
- Sacktor, B.: Trehalase and the Transport of Glucose in the Mammalian Kidney and Intestine. *Proc. Nat. Ac. Science, USA*, Vol. 60, pp. 1007-1014 (1968)
- v. Scherpenberg, H., Gröbner, W., Kandler, O.: Zur Physiologie und zum Vorkommen der Hamamelose. In: Beiträge zur Biochemie und Physiologie von Naturstoffen. Festschrift K. Lothes, Jena 1965 S. 387 ff.
- Senser, M.: Isotopenstudien zur Biosynthese und zum Umsatz der Raffinosezucker in Blättern. Diss. Univers. München (1967)
- Senser, M., Kandler, O.: Galactinol, ein Galactosyl-donor für die Biosynthese der Zucker der Raffinosefamilien in Blättern. *Z. Pflanzenphysiol.* Bd. 57, H. 4, pp. 376-388 (1967)

- Senser, M., Kandler, O.: Vorkommen und Verbreitung von Galactinol in Blättern Höherer Pflanzen. *Phytochemistry*, Vol. 6, pp. 1533-1540 (1967)
- Senser, M., Dittrich, P., Kandler, O., Thanbichler, A., Kuhn, B.: Isotopenstudien auf den Oligosaccharidumsatz bei Coniferen. *Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 84*, H. 7/8, pp. 445-455 (1971)
- Singh, B., Rastogi, R.P.: A Reinvestigation of the Triterpenes of *Centella asiatica*. *Phytochemistry*, Vol. 18, pp. 917-921 (1969)
- Snell, F.D., Snell, C.T.: *Colorimetric Methods of Analysis*. Bd. 3, Toronto, New York, London (1955)
- Speck, J.C.: Determination of Formaldehyd by Chromotropic Acid Method. *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Vol. 1, pp. 443-444 (1962)
- Svendsen, A.B.: Die Verbreitung der Umbelliferose in der Pflanzenfamilie der Umbelliferen. *Acta Chemica Scand.* 10, pp. 1500-1501 (1956)
- Takhtajan, A.: *Die Evolution der Angiospermen*, Jena 1959
- Tanner, W., Kandler, O.: Biosynthesis of Stachyose in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol.* Vol. 41, No. 9, pp. 1540-1542 (1966)
- Tanner, W., Lehle, L., Kandler, O.: Myo-inositol, a Cofactor in the Biosynthesis of Verbascose. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* Vol. 29, No. 2, pp. 166-171 (1967)
- Tanner, V., Seifarth, H., Kandler, O.: Der Umsatz der Oligosaccharide in reifenden und keimenden Samen von *Phaseolus vulgaris*. *Z. Pflanzenphysiol.* Bd. 58, H. 4, pp. 369-377 (1968)

- Tanner, W., Kandler, O.: Myo-inositol, a Cofactor in the Biosynthesis of Stachyose. *Europ. J. Biochem.*, 4, pp. 233-239 (1968)
- Trevelyan, W.E., Procter, D.D., Harrison, J.S.H.: Detection of Sugars on Paper Chromatograms. *Nature* (London), 166, pp. 444-445 (1950)
- Whistler, R.L., Durso, D.F.: Chromatographic Separation of Sugars on Charcoal. *J. Am. Chem. Soc.* 72, pp. 677-679 (1950)
- Wickstrom, A., Svendsen, A.B.: La structure d'un isomère du raffinose isole des racines de *L'Angélica archangélica* L. subspec. *norvégica* (Rupr.) Nordh. *Acta Chemica Scand.* 10, pp. 1199-1207 (1956)
- Yu-Teh Li, Su-Chen Li: α -Mannosidase, β -N-Acetylhexosaminidase and β -Galactosidase from Jack Bean Meal. In: *Methods in Enzymology*, Vol. 26, pp. 702-713 (1972)

2. Verwendete Übersichtsliteratur

- Bailey, R.W., Pridham, J.B.: The Separation and Identification of Oligosaccharides. *Chromatograph. Reviews*, 4, pp. 1114-1136 (1962)
- Barbier, N.: Chemistry and Biochemistry of Pollens. *Progress in Phytochemistry*, Vol. 2, pp. 1-35 (1970)
- Barmann, T.E.: *Enzyme Handbook*. Vol. 1, Vol. 2 (1969)
- Beck, E.: Kohlenhydrat- und Säurestoffwechsel. *Fortschritte d. Botanik*, Bd. 34, pp. 139-154 (1972)
- Bergmeyer, H.U.: *Methoden der enzymatischen Analyse*. Bd. 1,2 Weinheim/ Bergstr. (1972)

- Clotten, R., Clotten, A.: Hochspannungselektrophorese
Thieme-Verlag 1962
- Cronquist, A.: The Evolution and Classification of
Flowering Plants. Boston 1968
- Crowden, R.K., Harborne, J.B., Heywood, V.H.: Chemo-
systematics of the Umbelliferae - a General Survey.
Phytochemistry, Vol. 8, pp. 1963-1984 (1969)
- Dey, P.M., Pridham, J.B.: Biochemistry of α -Galactosidases.
Advances in Enzymology, Vol. 36, pp. 91-130 (1972)
- Engler, A.: Syllabus der Pflanzenfamilien. Bd. 2,
Berlin 1964.
- Ginsburg, V., Neufeld, E.F., Wood, W.A.: Methods in
Enzymology. Vol. 8, Complex Carbohydrates (1966),
Vol. 9, Carbohydrate Metabolism (1966), Vol. 28,
Complex Carbohydrates, Part B (1972)
- Harborne, J.B.: Biochemical Systematics. The use of
Chemistry in Plant Classification. In: Progress
in Phytochemistry. Vol. 1, pp. 545-589 (1968)
- Hassid, W.Z., Neufeld, E.F., Feingold, D.S.: Sugar
Nucleotides in the Interconversions of Carbohydrates
in Higher Plants. Proceed. Nat. Acad. Science, USA,
Vol. 45, No. 7, pp. 905-915 (1959)
- Hassid, W.Z.: Transformation of Sugars in Plants.
Annual Review of Plant Physiology, Vol. 18, pp.
253-280 (1967)
- Hegnauer, R.: Chemotaxonomie der Pflanzen, Bd. 3, Angio-
spermen A-C, Stuttgart 1964, Bd. 4, Angiospermen D-L,
Stuttgart 1966, Bd. 5, Angiospermen M-Q, Stuttgart
1969

- Hegnauer, R.: Pflanzenstoffe und Pflanzensystematik.
Naturwissensch. Vol. 58, H. 12, pp. 585-598 (1971)
- Heywood, V.H.: Biology and Chemistry of the Umbelliferae.
Suppl. 1 to the Bot. Journ. of the Linnean Society,
Vol. 64, (1972)
- Kandler, O.: Biosynthesis of Poly- and Oligosaccharides
During Photosynthesis in Green Plants. In: A. San
Pietro: Harvesting the Sun pp. 131-152 (1967)
- Loewus, F.: Carbohydrate Interconversions. Annual Review
of Plant Physiology, Vol. 22, pp. 337-364 (1971)
- Miller, L.P.: Mono- and Oligosaccharides. Phytochemistry:
The Process and Products of Photosynthesis, Vol. 1,
pp. 145-175 (1973)
- Nikaido, H., Hassid, W.Z.: Biosynthesis of Saccharides
from Glycopyranosyl Esters of Nucleoside Pyrophosphates
("Sugar Nucleotides"), Advances in Carbohydrate
Chemistry, Vol. 26, pp. 352-439 (1971)
- Pigman, V., Horton, D.: The Carbohydrates. Vol. 2 A,
Sec. Ed. (1970)
- Ruhland, W.: Handbuch der Pflanzenphysiologie Bd. 6:
Aufbau, Speicherung, Mobilisierung und Umbildung
der Kohlenhydrate (1958)
- Stanek, J., Cerny, M., Pacak, J.: The Oligosaccharides,
Prague 1965
- Stange, L.: Kohlenhydrate In: Linskens, H.F.: Papier-
chromatographie in der Botanik, pp. 81-110 (1959)
- Takhtajan, A.: Die Evolution der Angiospermen, Jena 1959

- Towle, G.A., Whistler, R.L.: Hemicelluloses and Gums.
In: Miller, L.P.: Phytochemistry, The Process and
Products of Photosynthesis, Vol. 1, pp. 249-269 (1973)
- Walter, W.: Kohlenhydrate. In: Rauen, H.: Biochemisches
Taschenbuch, Bd. 1, pp. 106-178 (1964)
- Weigel, H.: Paper Electrophoresis of Carbohydrates.
Advances in Carbohydrate Chemistry, 18, pp. 61-97
(1963)
- Whistler, R.L., Wolfrom, M.L.: Methods in Carbohydrate
Chemistry. Vol. 1, Analysis and Preparations of
Sugars (1962), Vol 2, Reactions of Carbohydrates (1963),
Vol. 5, General Polysaccharides (1965)
- Ziegler, H.: Wasserumsatz und Stoffbewegungen. Fort-
schritte d. Botanik, Bd. 33, pp. 63-68 (1971)

Lebenslauf

Am 29. Februar 1944 wurde ich, Herbert Hopf, als Sohn des Technischen Bundesbahn Betriebsinspektors Georg Hopf und seiner Ehefrau Olga, geb. Odorfer, in München geboren.

Von 1950 bis 1954 besuchte ich die Volksschule in München. 1954 trat ich in das Neue Realgymnasium (jetziges Albert Einstein Gymnasium) in München über, an dem ich 1963 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1963/64 begann ich an der Universität München mit dem Studium der Fächer Biologie, Chemie und Geographie. Ich beendete das Studium 1969 mit der Wissenschaftlichen Prüfung für das Lehramt an den Gymnasien in den Fächern Biologie und Chemie.

Mit der Anfertigung der vorliegenden Dissertation begann ich im Dezember 1969 am Botanischen Institut der Universität München unter der Leitung von Herrn Professor Dr. O. Kandler. Am gleichen Institut war ich anfangs als wissenschaftliche Hilfskraft, danach als Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle und ab Mai 1971 als wissenschaftlicher Angestellter tätig.

Seit September 1973 bin ich als Studienreferendar am Josef-Hofmiller-Gymnasium in Freising tätig.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. O. Kandler am Botanischen Institut der Universität München angefertigt.

Herrn Prof. Kandler danke ich besonders für seine wertvollen Anregungen und Ratschläge und für sein großes Interesse an meiner Arbeit.

Fräulein Dr. M. Senser hat alle Versuche, die vor 1970 datiert sind, ausgeführt und sie mir freundlicherweise für die vorliegende Arbeit zur Verfügung gestellt. Dafür und für ihre stets große Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit sei ihr sehr herzlich gedankt.

Herrn M. Fischer möchte ich für die Einweisung in die Arbeitstechnik und für viele wertvolle Diskussionen danken. Weiterhin möchte ich den Herren Prof. Dr. E. Beck, Prof. Dr. W. Tanner, Dr. P. Dittrich und Dr. L. Lehle für zahlreiche Anregungen und praktische Hinweise danken.

Herr K. Liedl hat die Photographien angefertigt. Ihm sei an dieser Stelle hierfür gedankt.

Frau P. Eichel danke ich für ihre sorgfältige Assistenz bei einem Teil der Versuche.

